



**VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ**

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**FAKULTA CHEMICKÁ**

FACULTY OF CHEMISTRY

**ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ**

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**EXTRAKCE BIOAKTIVNÍCH LÁTEK Z VÝLISKŮ ARONIE**

EXTRACTION OF BIOACTIVE SUBSTANCES FROM BLACK CHOKEBERRY POMACE

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

BACHELOR'S THESIS

**AUTOR PRÁCE**

AUTHOR

Ulyana Kapiton

**VEDOUCÍ PRÁCE**

SUPERVISOR

RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.

**BRNO 2017**

## Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1103/2016  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Studentka: **Ulyana Kapiton**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Potravinářská chemie  
Vedoucí práce: **RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.**  
Akademický rok: 2016/17

### Název bakalářské práce:

Extrakce bioaktivních látek z výlisků aronie

### Zadání bakalářské práce:

Teoretická část:

- 1) Stručná charakteristika rostlinného druhu *Aronia melanocarpa*
- 2) Biologicky aktivní látky obsažené v aronii a využití tohoto ovoce
- 3) Stanovení jednoduchých sacharidů manuálními metodami
- 4) Stručný popis vybraných extrakčních postupů

Experimentální část:

- 1) Příprava výlisků a šťávy z plodů aronie
- 2) Příprava extraktů z aroniových výlisků vybranými postupy
- 3) Stanovení chemických charakteristik připravených extraktů a aroniové šťávy
- 4) Zpracování získaných dat a interpretace výsledků

### Termín odevzdání bakalářské práce: 19.5.2017

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

-----  
Ulyana Kapiton  
student(ka)

-----  
RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.  
vedoucí práce

-----  
prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2017

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

## ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá kvantifikací vybraných bioaktivních látek z aroniové šťávy, extraktů aroniových výlisků a z aroniového čaje.

V teoretické části je uveden botanický popis aronie, druhu *Aronia melanocarpa*. Dále chemické vlastnosti plodů aronie a jejich využití v potravinářském zdravotnickém a kosmetickém průmyslu. V závěru teoretické části jsou uvedeny manuální metody stanovení jednoduchých sacharidů a stručně popsány vybrané extrakční postupy.

Experimentální část obsahuje stanovení těchto chemických charakteristik analyzovaných aroniových produktů: pH, titrační kyselosti, refraktometrické sušiny, redukujících sacharidů podle Bertranda a gravimetricky, fenolických látek a celkových anthokyanů. Nejvíce celkových fenolů  $319,54 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  bylo stanoveno ve vzorku aroniového čaje po 10 minutách digesce. V takto připraveném čaji byla stanovena také nejvyšší hodnota koncentrace anthokyanových barviv –  $889,49 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ .

## ABSTRACT

This bachelor thesis deals with the quantification of selected bioactive substances in chokeberry juices, in the extracts of chokeberry and in chokeberry tea.

In the theoretical part, there is a botanical description of chokeberry, (*Aronia melanocarpa*). Furthermore, the chemical properties of aronia and their use in the food, cosmetics industry and in the medicine. At the end of the theoretical part there are presented manual methods for determination of simple saccharides and briefly described selected extraction methods.

The experimental part contains the determination of these chemical characteristics of analyzed aronia products: pH, titratable acidity, refractometric determination of dry matter, reducing sugars according to Bertrand's method and gravimetric determination, total phenolics and total anthocyanins. The highest phenolic content  $319,54 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  were determined in a sample of aronia tea for 10 min digestion. The highest concentration of anthocyanin dyes was also determined in this tea –  $889,49 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ .

## KLÍČOVÁ SLOVA

aronie, aroniové výlisky, celkové anthokyany, fenolické látky, redukující sacharidy, extrakce

## KEYWORDS

chokeberry, chokeberry pomace, total anthocyanins, total phenolics, reducing saccharides, extraction

KAPITON, U. *Extrakce bioaktivních látek z výlisků aronie*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 51 s. Vedoucí bakalářské práce RNDr. Milena Vespalcová, Ph.D.

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....  
podpis studenta

### *Poděkování:*

*Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucí bakalářské práce RNDr. Mileně Vespalcové za vstřícnost, čas a odborné vedení při zpracování práce. Dále bych chtěla poděkovat svým blízkým za podporu, důvěru a pomoc během celého mého studia.*

# OBSAH

<b>1 ÚVOD .....</b>	<b>7</b>
<b>2 TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>8</b>
2.1 Aronie .....	8
2.1.1 Geografický původ a ekologický profil aronie .....	8
2.1.2 Temnoplodec černý (Aronia melanocarpa).....	8
2.1.3 Botanická charakteristika .....	9
2.1.4 Odrůdy.....	10
2.2 Chemické složení plodů .....	10
2.2.1 Polyfenolické sloučeniny .....	10
2.2.2 Vitaminy.....	12
2.2.3 Minerální látky .....	13
2.2.4 Organické kyseliny, aromatické látky a třísloviny.....	13
2.2.5 Základní živiny.....	14
2.2.6 Vláknina a pektiny .....	15
2.3 Využití aronie.....	16
2.3.1 Ve zdravotnictví .....	16
2.3.2 V potravinářském průmyslu .....	16
2.3.3 Další využití aronie .....	17
2.4 Stanovení jednoduchých sacharidů manuálními metodami.....	17
2.4.1 Volumetrické metody založené na stanovení oxidu měďného .....	18
2.4.2 Volumetrické metody založené na stanovení přebytku měďnatých iontu	19
2.4.3 Porovnání metod stanovení redukujících sacharidů.....	20
2.5 Stručný popis vybraných extrakčních postupů .....	20
2.5.1 Extrakce.....	20
2.5.2 Macerace .....	20
2.5.3 Digesce .....	20
<b>3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....</b>	<b>21</b>
3.1 Laboratorní vybavení .....	21
3.1.1 Pomůcky.....	21
3.1.2 Přístroje .....	21

3.1.3	Chemikálie .....	21
3.2	Příprava studovaných vzorků z plodů aronie .....	22
3.2.1	Lisování .....	22
3.2.2	Extrakce .....	22
3.3	Příprava vzorků čajů .....	23
3.4	Stanovení celkové sušiny .....	23
3.5	Stanovení hodnoty pH .....	24
3.6	Stanovení titrační kyselosti .....	24
3.7	Stanovení refraktometrické sušiny .....	24
3.8	Stanovení redukujících sacharidů .....	25
3.8.1	Stanovení redukujících sacharidů podle Bertranda .....	25
3.8.2	Stanovení redukujících sacharidů pomocí gravimetrie .....	25
3.9	Stanovení celkových fenolických látek .....	26
3.10	Stanovení celkových anthokyanových barviv .....	26
<b>4</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>27</b>
4.1	Stanovení celkové sušiny aroniových plodů .....	27
4.2	Stanovení hodnoty pH .....	28
4.3	Stanovení titrační kyselosti .....	29
4.4	Stanovení refraktometrické sušiny .....	31
4.5	Stanovení redukujících sacharidů .....	33
4.5.1	Stanovení redukujících sacharidů podle Bertranda .....	33
4.5.2	Stanovení redukujících sacharidů pomocí gravimetrie .....	35
4.6	Stanovení celkových fenolických látek .....	38
4.7	Stanovení celkových anthokyanových barviv .....	40
<b>5</b>	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>46</b>
<b>6</b>	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>47</b>
<b>7</b>	<b>PŘÍLOHY .....</b>	<b>50</b>

# 1 ÚVOD

V současné době se zvětšuje zájem populace o zdravé stravování, zdravý životní styl a intenzivní využití všech přírodních zdrojů. Snahou je využít všechny dostupné přírodní suroviny a zpracovat je s pokud možno minimálním odpadem. Pro potravinářské účely to znamená vracet se ke zkušenostem našich předků a hledat zdroje v již zapomenutých potravinách a tyto zdroje téměř beze zbytku zpracovat.

Jedním z polozapomenutých druhů ovoce je např. aronie, temnoplodec černý nebo černý jeřáb. Naši předkové tyto plody hojně využívali kvůli jejich vysoké nutriční hodnotě. Zpracovávali je na šťávy, marmelády a další výrobky domácí kuchyně. Také je sušili a používali jako čaj.

Nyní se k tomuto ovoci vrací potravinářská věda, zkoumá detailně chemické složení plodů a vliv na zdraví člověka s cílem podpořit zařazení aronie do každodenní stravy. Zatím jen v prodejnách zdravé výživy nebo v e-shopech je možné koupit pasterovanou aroniovou šťávu, čistě aroniový nebo směsný sirup nebo marmeládu z aronie.

Aroniové výrobky zpracovávají většinou vylisovanou aroniovou šťávu. Malé procento výlisků slouží k výrobě tabletových potravních doplňků. Většina výlisků se však kompostuje přesto, že obsahuje nemalé procento bioaktivních látek, především anthokyanových barviv.

Proto se tato bakalářská práce zabývá kvantifikací vybraných bioaktivních látek z aroniové šťávy, extraktů aroniových výlisků a z aroniového čaje.



## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Aronie

Aronie (lidově nazývaná „černý jeřáb“) je všestrannou léčivou rostlinou pro posílení našeho zdraví. Přesto, že v České republice je aronie poměrně málo známá, tak je to velice prospěšný druh ovoce. Bojuje s vysokým krevním tlakem, cholesterolem, stresem, zpomaluje stárnutí, diabetikům nahrazuje sladidlo a obsahuje spoustu vitamínů. Plody aronie ve srovnání s ostatním ovocem jsou známy svým dosud nejvyšším naměřeným obsahem anthokyanů, což jsou bioaktivní látky, které mají vliv na mnoho procesů probíhajících v lidském organismu.

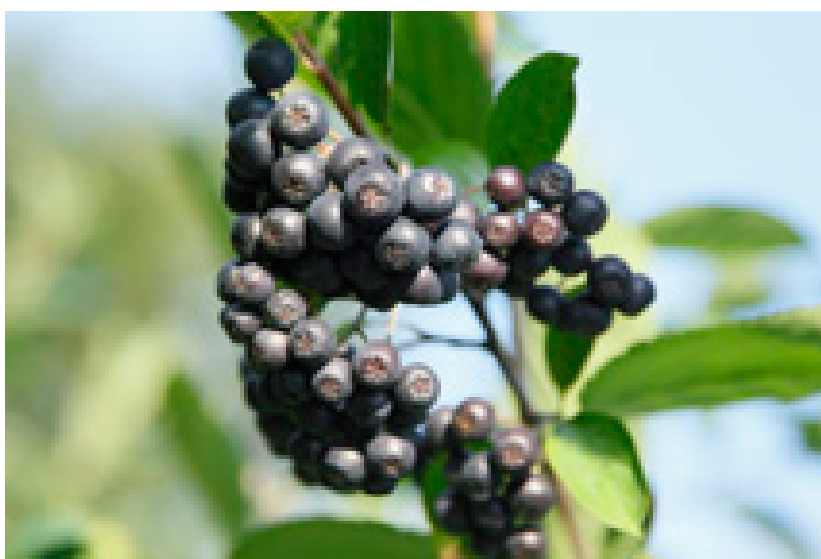
#### 2.1.1 Geografický původ a ekologický profil aronie

Rod aronie je řazen do čeledi růžovitých (*Rosaceae*) a je zastoupen třemi botanicky příbuznými druhy, které jsou podobné jeřábům. Ze Severní Ameriky a Kanady pochází *Aronia arbutifolia* (Temnoplodec planikolistý) a *Aronia prunifolia* (Temnoplodec třesholistý). Třetím druhem je *Aronia melanocarpa* (Temnoplodec černý), obrázku 1, jehož studiu je věnovaná tato bakalářská práce. V roce 1990 ruský botanik Mičurin přivezl aronii do Ruska, odkud se rozšířila přes Ukrajinu a Polsko do celé Evropy. V dnešní době je aronie docela rozšířená ve všech státech severní polokoule (USA, Švédsko, Dánsko), ale hlavně ve státech bývalého Sovětského svazu. V Evropě byla aronie původně pěstována pouze jako dekorativní keř [1], [2], [3].

Aronie je nenáročná, roste téměř všude, kromě mělkých křídových půd a bažinatých oblastí. Je odolná proti nepříznivým klimatickým podmínkám, ale má vysoké nároky na světlo. V České republice se pěstuje jediná šlechtěná odrůda Nero [4].

#### 2.1.2 Temnoplodec černý (*Aronia melanocarpa*)

Temnoplodec, běžněji nazývaný aronie, patří mezi drobné ovoce, které obsahuje vysoké množství antioxidantů, vitamínů a dalších biologicky důležitých aktivních látek. Taxonomické zařazení aronie je uvedeno v tabulce 1.



Obrázek 1: Aronie (*Aronia melanocarpa*) [5]

Tabulka 1: Taxonomické zařazení aronie (*Aronia melanocarpa*) [6]

Říše	Rostliny ( <i>Plantae</i> )
Podříše	vyšší rostliny ( <i>Cormobionta</i> )
Oddělení	krytosemenné ( <i>Magnoliophyta</i> )
Třída	vyšší dvouděložné ( <i>Rosopsida</i> )
Řád	růžotvaré ( <i>Rosales</i> )
Čeleď	růžovité ( <i>Rosaceae</i> )
Rod	termoplodec ( <i>Aronia</i> )
Druh	černoplodý ( <i>Aronia melanocarpa</i> )

### 2.1.3 Botanická charakteristika

*Aronia melanocarpa* je 0,5–3 m opadavý vysoký keř, který má eliptické celokrajné listy, protáhle oválného tvaru. Svrchu jsou listy leskle tmavě zelené (Obrázek 2), vespod světlejší, na podzim ale jsou hnědočervené (Obrázek 3). Keř aronie tvoří chocholíky bílých až růžových květů, které kvetou v květnu.

Plody dozrávají koncem srpna až v září, jsou okrouhlé, temně fialové až černé barvy, průměr plodů je 1,5 cm, lesklé, sladce trpké chuti a mají pevnou slupku. Šťáva a semena mají tmavě fialovou barvu. Po dozrání plody rychle vysychají, jak to je znázorněno na obrázku 3. Hmotnost plodu se pohybuje v rozmezí 0,5–2,0 g a kulaté malvice (typ plodu) mají průměr 0,6–1,5 cm. Výhodou aronie je její odolnost vůči mrazu do  $-36\text{ }^{\circ}\text{C}$  [6], [8].



Obrázek 2: Květenství aronie [6]

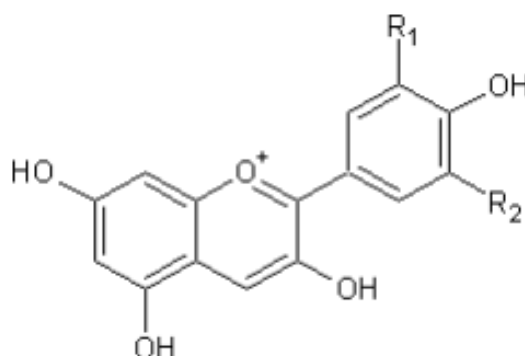


Obrázek 3: Aronie na podzim [9]



### 2.2.1.2 Anthokyaniny

Anthokyaniny jsou přírodní rostlinná barviva, která dodávají ovoci červené, modré, fialové a černé zbarvení. V tabulce 2 jsou uvedené aglykony (anthokyanidiny) a jejich příslušná barva. Využívají se v různých typech průmyslů: potravinářský, farmaceutický a kosmetický. Anthokyaniny jsou glykosidy aglykonů. Všechny anthokyaniny jsou v poloze C-4' substituovány hydroxylovou skupinou a vzájemně se odlišují substituenty na dalších uhlících (kyanidin-3-O-galaktosid, kyanidin-3-O-arabinosid atd.). Obsah anthokyanů v plodech aronie se pohybuje v rozmezí 725–800 mg na 100 g [2], [14].



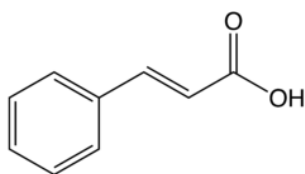
*Chemická struktura anthokyanidinu*

*Tabulka 2: Nejčastější zástupce anthokyanidinů v aronii [15]*

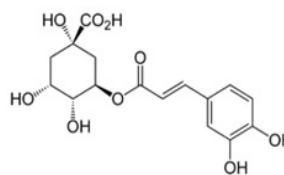
Aglykon	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Barva
Kyanidin	OH	H	červená
Peonidin	OCH <sub>3</sub>	H	fialová
Pelargonidin	H	H	červená
Malvidin	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	červená
Delfinidin	OH	OH	modrá
Petunidin	OCH <sub>3</sub>	OH	fialová

### 2.2.1.3 Fenolické kyseliny

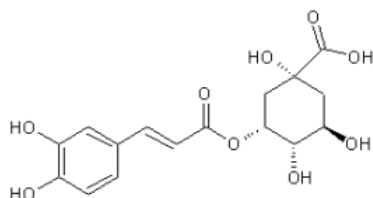
Plody aronie obsahují 96 mg fenolických kyselin na 100 g. Mezi tyto kyseliny patří kyselina benzoová a kyselina skořicová, které mají antioxidační vlastnosti. V aronii se nachází další antioxidanty, jako jsou kyselina chlorogenová, kyselina neochlorogenová a kyselina kávová. Fenolické kyseliny představují 7,5 % ze všech fenolických sloučenin, které jsou přítomné v plodech aronie [2], [9],[14].



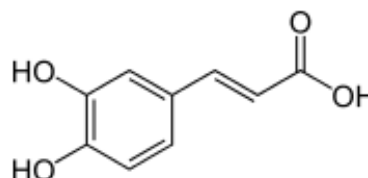
*kyselina skořicová*



*kyselina chlorogenová*



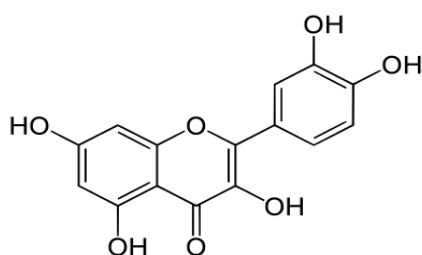
*kyselina neochlorogenová*



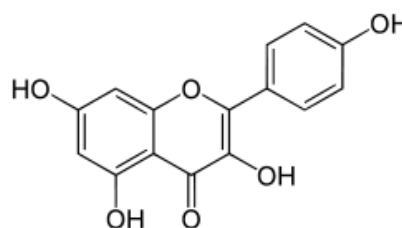
*kyselina kávová*

#### 2.2.1.4 Flavonoly

Flavonoly hrají důležitou roli v metabolismu rostlin, jsou filtrem, který chrání rostliny před UV zářením. Flavonoly nejsou příliš zastoupeny v plodech aronie jako ostatní fenolické sloučeniny. Plody aronie jich obsahují 71 mg na 100 g sušiny. Nejvíce se v aronii vyskytují kvercetin (92 mg·kg<sup>-1</sup>) a kempferol (7 mg·kg<sup>-1</sup>). Aronie obsahuje taky jejich deriváty, glykosidy: kempferol-3-galaktosid a kvercetin-3-galaktosid [8].



*kvercetin*



*kempferol*

#### 2.2.2 Vitaminy

Vitaminy jsou esenciálními složkami potravy. Jsou to organické biokatalyzátory heterotrofních organismů. Vitaminy lze rozdělit na vitaminy rozpustné v tucích (lipofilní – A, D, E, K) a na vitaminy rozpustné ve vodě (hydrofilní – vitaminy skupiny B, vitamin C a H) [16].

V aronii jsou obsaženy vitaminy skupiny B, E, K a taky v poměrně velkém množství je obsažen vitamin C. Koncentrace vitaminů v čerstvých plodech je uvedena v tabulce 3.

Tabulka 3: Koncentrace vitaminů v čerstvých plodech aronie [2]

Vitaminy	Čerstvé plody
<b>C</b>	137 mg·kg <sup>-1</sup>
<b>B<sub>1</sub></b>	180 μg·kg <sup>-1</sup>
<b>B<sub>2</sub></b>	200 μg·kg <sup>-1</sup>
<b>B<sub>3</sub></b>	3 000 μg·kg <sup>-1</sup>
<b>B<sub>5</sub></b>	2 790 μg·kg <sup>-1</sup>
<b>B<sub>6</sub></b>	280 μg·kg <sup>-1</sup>
<b>K</b>	242 μg·kg <sup>-1</sup>
<b>E</b>	17,1 mg·kg <sup>-1</sup>

### 2.2.3 Minerální látky

Minerální látky jsou anorganické sloučeniny, které plní životně důležité úkoly a zajišťují optimální průběh biochemických procesů v organismu. Minerální látky dělíme na makroprvky (Na, K, Mg, Ca, P, S, Cl) a mikroprvky (Fe, Cr, Ni, I, Mn, Zn, Cu) [17], [18].

Aronie je dobrým zdrojem minerálních látek. Nejvíce zastoupený je v aronii draslík (1969 mg·dm<sup>-3</sup> ve šťávě a 2180 mg·dm<sup>-3</sup> v plodech aronie). Obsah minerálních látek se liší u některých odrůd v závislosti na času sběru a datu sklizně [13].

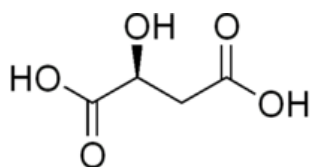
### 2.2.4 Organické kyseliny, aromatické látky a třísloviny

Ve většině léčivých rostlin jsou přítomné organické kyseliny, aromatické látky a třísloviny. Na jejich zastoupení má vliv hodně faktorů: teplota, lokalita pěstování, stupeň zralosti, skladování a další [19].

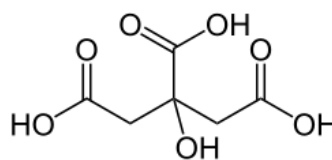
#### 2.2.4.1 Organické kyseliny

Organické kyseliny ovlivňují senzorické vlastnosti plodů, tlumí růst bakterií, pomáhají procesu trávení. Zastoupení organických kyselin v plodech aronie je poměrně nízké a pohybuje se kolem 0,76–1,44 hm. %. Organické kyseliny mají vliv na hodnotu pH [20].

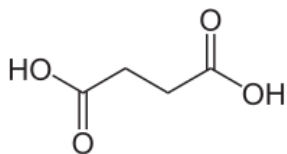
Aronie má hodnotu pH v rozmezí 3,3–3,9. Plody aronie obsahují převážně kyselinu jablečnou a kyselinu citronovou. Také byly identifikované další organické kyseliny: isocitronová, jantarová a šťavelová [2], [19].



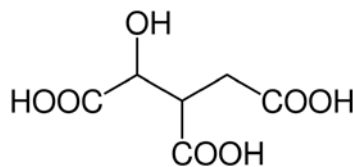
*kyselina jablečná*



*kyselina citronová*



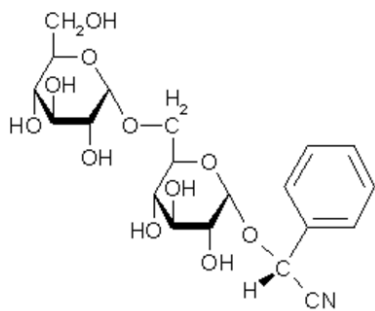
*kyselina jantarová*



*kyselina isocitronová*

#### 2.2.4.2 Aromatické látky

Z aromatických látek, které jsou zastoupeny v plodech aronie, je nejvýznamnější amygdalin. Je to látka, která je zodpovědná za hořko-mandlovou chuť a její obsah v plodech aronie činí 20,1 mg na 100 g, ve šťávě 5,7 mg na 100 g. Výlisky z aronie obsahují nejvíce amygdalinu 52,3 mg na 100 g. Aronie také obsahuje další aromatické látky jako je benzaldehyd, ethanol, benzaldehyd-kyanhydrin, 2-methylpropan-1-ol, kyselina ethanová, 2-methylpropanová, 3-penten-2-on a další [2], [21].



*Strukturní vzorec amygdalinu*

#### 2.2.4.3 Třísloviny

Třísloviny (synon. taniny) jsou přirozené složky potravin, které podstatným způsobem ovlivňují žádoucí (např. u čaje, kávy, kaka) i nežádoucí (např. u nezralého ovoce) chuťové vlastnosti potravin. Aronie jich obsahuje velké množství [2].

#### 2.2.5 Základní živiny

Základní živiny – jsou anorganické nebo organické látky, které jsou nezbytné k výživě lidského organismu. Obecně je můžeme rozdělit do dvou skupin: neenergetické (voda, minerální látky, vitaminy, vláknina) a energetické (sacharidy, lipidy a bílkoviny).

##### *Sacharidy*

Obsah sacharidů v plodech aronie se pohybuje v rozmezí 16–18 %. Aronie obsahuje oproti jiným druhům drobného ovoce také sorbitol; v čerstvé šťávě  $80 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$  a v pasterizované šťávě  $55,6 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Sorbitol se používá jako náhradní sladidlo. Čerstvá šťáva obsahuje

41 g·dm<sup>-3</sup> glukózy, 38 g·dm<sup>-3</sup> fruktózy, 79 g·dm<sup>-3</sup> sacharózy. Pasterizovaná šťáva obsahuje 40 g·dm<sup>-3</sup> glukózy, 37 g·dm<sup>-3</sup> fruktózy, 77 g·dm<sup>-3</sup> sacharózy [2], [9].

### ***Lipidy***

Zastoupení lipidů v aronii je poměrně malé, což činí 0,14 %. V semenech byl stanoven obsah glyceridů na 19,3 g·kg<sup>-1</sup>. Z mastných kyselin nejvíce je zastoupená kyselina linolová. Obsah sterolů byl stanoven na 1,2 g na 1 kg sušiny [2], [9].

### ***Bílkoviny***

Celkový obsah proteinů v aronii je 0,70 %. Z aminokyselin nejvíce zastoupenou v čerstvě šťávě je asparagin [2], [9].

## **2.2.6 Vláknina a pektiny**

Pod pojmem vláknina rozumíme nestavitelné zbytky rostlinného původu. Lze rozdělit do dvou skupin: hrubá vláknina, která není rozpustná ve vodě a je tvořená ligninem, celulózą a hemicelulózą a rozpustná, kterou tvoří pektiny, gumy, slizy a hemicelulózy. Ovoce obsahuje převážně pektiny.

### ***Vláknina***

Vláknina potravy je jedlý podíl rostlin, nebo analogických sacharidů, které jsou v lidském organismu rezistentní vůči trávení a vstřebávání v tenkém střevu. Vláknina potravy zahrnuje polysacharidy, oligosacharidy, lignin a přidružené rostlinné substance. Plody aronie obsahují velké množství celulózy, hemicelulózy a ligninu, a proto je můžeme používat jako dobrý zdroj vlákniny 5,62 g na 100 g [5], [22].

### ***Pektiny***

Dozrávající ovoce obsahuje ve svých pletivech ve vodě nerozpustné pektinové látky (protopektiny), které se v průběhu zrání přemění účinkem enzymů na rozpustné pektiny a následně pletivo změkne. Plody aronie obsahují malé množství pektinů 0,3–1,2 hm. %. Dominantní pektinovou složkou v aronii je protopektin [14], [20].



## 2.3 Využití aronie

Aronie se používá ve zdravotnictví, potravinářském, farmaceutickém a kosmetickém průmyslu.

### 2.3.1 Ve zdravotnictví

Polyfenolické sloučeniny, minerální látky, vitaminy, organické kyseliny a třísloviny jsou zodpovědné za terapeutické a léčivé účinky aronie. Aronie má velké množství pozitivních účinků na zdraví: antioxidační, protirakovinné, antimutagenní, hepatoprotektivní, kardioprotektivní a antidiabetické [2], [23].

Bylo prokázáno, že aronie má vliv při léčbě rakoviny nebo její prevenci. Anthokyany, které jsou přítomné v aronii by mohly snížit toxicitu a akumulaci kadmia v ledvinách a játrech (hepatoprotektivní účinky). Aronie snižuje riziko kardiovaskulárních onemocnění. Fenolové složky přispívají k ochraně a obnově buněk endotelu, tj. vnitřního povrchu krevních i lymfatických cév a srdce. V důsledku toho se zlepšuje funkce těchto orgánů. Studie ukazují, že anthokyany v aronii mohou být užitečné při prevenci a kontrole diabetu druhého typu. Taky se používá jako doplňkový prostředek proti vysokému krevnímu tlaku [2], [24], [25].

### 2.3.2 V potravinářském průmyslu

Plody aronie mají specifickou sladko-kyselou až mírně natrpkou chuť. Kvůli nepříjemné trpké chuti jsou vhodnější ke zpracování na produkty než k přímému konzumu. Avšak je potřeba dbát na to, aby teplota při zpracování nepřesáhla 60 °C, protože pak ztrácí šťáva polyfenolické látky, díky kterým má vysoké antioxidační schopnosti.

Plody aronie poskytují po vylisování až 60 % šťávy, kterou pak můžeme použít k výrobě biologicky aktivního, neškodného potravinářského barviva

Plody aronie lze sušit či zmrazovat, ale zpravidla se zpracovávají čerstvé na marmelády, džemy, želé, sirupy, kompoty, vína a likéry. Aronie se také používá jako přídavek v podobě sušeného ovoce do čajů. Plody aronie obsahují přírodní konzervant vitamin C, a proto nepodléhají působení plísní, kvasinek a bakteriální hnilobě, mají delší trvanlivost než jiné druhy ovoce. Výrobky z plodů aronie jsou uvedeny na obrázku 4 a obrázku 5 [1], [2], [7], [8], [24].



Obrázek 4: Potravinářské produkty z aronie českého výrobce [5]



Obrázek 5: Potravinářské produkty z aronie ze Slovenska [26]

### 2.3.3 Další využití aronie

Farmaceutický průmysl vyrábí z aroniových extraktů sirupy nebo různé doplňky stravy. Potkáváme je ve formě lisovaných tablet nebo v práškové formě. Je doporučováno konzumovat aronie při léčbě různých chorob jako jsou vysoký krevní tlak, arterioskleróza, avitaminóza nebo hemeroidy. Také bylo zjištěno, že aronie posiluje imunitní systém a snižuje emocionální nerovnováhu.

Využití aronie v kosmetickém průmyslu se začíná hojně se rozšiřovat. Výhodou kosmetiky z aronie je to, že to je přírodní kosmetika. Výtažky z plodů aronie se přidávají do různých krémů a sér [20].



Obrázek 6: Kosmetické výrobky z aronie [24]

## 2.4 Stanovení jednoduchých sacharidů manuálními metodami

Chemické metody stanovení sacharidů jsou založené na redukčních schopnostech cukrů. Jejich základním principem je oxidace redukujících cukrů měďnatými ionty prostřednictvím alkalických roztoků za horka. Množství redukujících cukrů se dají stanovit ze složení reakční směsi buď z množství vyloučeného oxidu měďného, nebo ze zbytkového množství měďnatých iontů [27], [28].

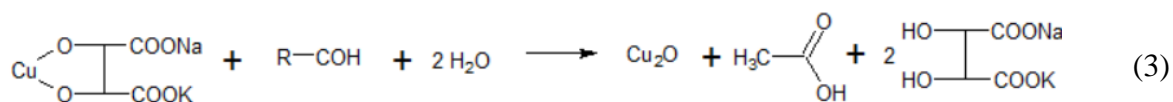
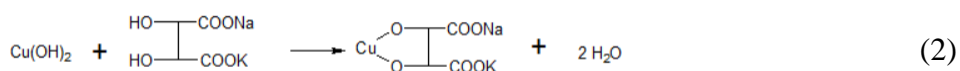
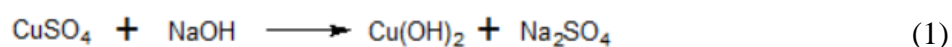
## 2.4.1 Volumetrické metody založené na stanovení oxidu měďného

K těmto metodám patří metoda podle Bertranda (Rotshe), metoda podle Ofnera a komplexometrická metoda.

### 2.4.1.1 Metoda podle Bertranda (Rotsche)

Základem této metody je redukce oxidu měďného z Fehlingových roztoků redukujícími sacharidy.

Při smísení roztoků Fehlingova činidla I (síran měďnatý) a Fehlingova činidla II (vínan sodno-draselný a hydroxid sodný) vzniká světle modrá sraženina hydroxidu měďnatého, která je uvedena v rovnici 1, která se v nadbytku Fehlingova činidla II rozpustí za vzniku tmavomodrého Fehlingova komplexu, jak je uvedeno v rovnici 2.



K Fehlingovému komplexu se přidá analyzovaný vzorek a pokud v něm jsou přítomné redukující sacharidy, tak dochází k oxidaci aldehydické nebo ketonické skupiny a zároveň dochází k redukci  $\text{Cu}^{2+}$  na  $\text{Cu}^+$ , roztok při této reakce změní barvu z modré na hnědočervenou. Oxid měďný se rozpustí roztokem síranu železitého v kyselině sírové. Měď se zoxiduje na dvojmocnou a vzniká přitom ekvivalentní množství železnatých iontů, které se stanoví manganometricky v kyselém prostředí. Spotřeba manganistanu draselného je úměrná obsahu mědi a tím pádem je úměrná redukujícím sacharidům. V tabulce je pak uvedeno odpovídající příslušné množství sacharidů.

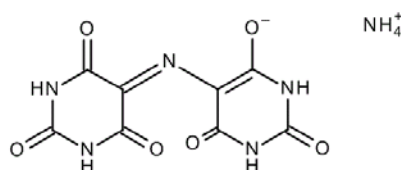
Na podobném principu je založena vážková neboli gravimetrická metoda, kde vyredukovaný oxid měďný se stanoví gravimetricky. Sraženina se přefiltruje, promyje vodou, ethanolem a diethyletherem, potom se suší při 105 °C přesně 45 minut a poté se zváží. Obsah sacharidů se vypočítá z hmotnosti oxidu měďného za využití tabulek [27], [29].

### 2.4.1.2 Metoda podle Ofnera

Ofnerova metoda se většinou používá u pekařských výrobků. Cukerný extrakt reaguje s alkalickým roztokem měďnaté soli za vzniku oxidu měďného, který po okyselení kyselinou chlorovodíkovou oxiduje známým nadbytkem odměrného roztoku jodu na dvojmocnou měď. Nespotřebovaný jod se stanoví titrací thiosíranem na škrobový indikátor [27].

### 2.4.1.3 Komplexometrická metoda

I tato metoda využívá primárního vzniku oxidu měďného. Ten se po odfiltrování rozpustí v kyselině dusičné a vzniklé měďnaté ionty se stanoví titrací chelatonem 3 na murexid [28].



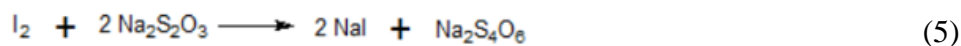
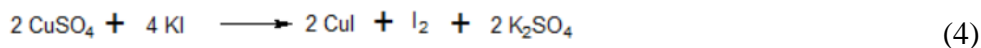
Vzorec murexidu

### 2.4.2 Volumetrické metody založené na stanovení přebytku měďnatých iontu

Mezi tyto metody patří zejména metoda podle Schoorla, metoda podle Luffa-Schoorla a metoda podle Rebeleina.

#### 2.4.2.1 Metoda podle Schoorla

Nejpoužívanější metoda stanovení redukujících cukrů v potravinářském průmyslu je Schoorlova metoda. Metoda je založena na stejném principu jako Bertrandova až po vyredukování oxidu měďného. Stanovuje se nezreagovaná dvojmocná měď síranu měďnatého jodometricky po okyselení kyselinou sírovou. Reakcí měďných iontů s nadbytečným jodidem draselným vzniká těžce rozpustný jodid měďný, který je znázorněn v rovnici 4.



Při reakci se uvolní elementární jod, který musí být ihned ztitrován thiosíranem sodným podle rovnice 5. Množství redukujících sacharidů se určí z rozdílů spotřeb thiosíranu sodného mezi slepým pokusem a analyzovaným vzorkem s využitím tabulek [27], [29].

#### 2.4.2.2 Metoda podle Luffa-Schoorla

Tato metoda je vhodná pro vzorky, které obsahují více druhů redukujících sacharidů. Je obdobná metodě podle Shoorla, ale místo Fehlingových činidel se používá Luffův roztok ( $\text{CuSO}_4 + \text{citronan sodný} + \text{Na}_2\text{CO}_3$ ). Analyzovaný vzorek se sacharidy reaguje za horka s měďnatými ionty z Luffova roztoku. Směs se zahřívá za varu pod zpětným chladičem přesně 10 minut. Další postup je podobný jako u předchozí metody. Po okyselení se nadbytek měďnatých iontů stanoví jodometricky [29].

#### 2.4.2.3 Zkrácená metoda dle Rebeleina

Metoda využívá jodometrické stanovení. Koncentrace redukujících cukrů se stanoví z rozdílů spotřeb roztoku thiosíranu sodného na titraci měďnatých iontů o definované koncentraci a jeho zůstatku po reakci s redukujícími cukry. U této metody není potřeba předem odstraňovat interferující látky [31].

### **2.4.3 Porovnání metod stanovení redukujících sacharidů**

Cílem je vybrat nejvíc vhodné metody stanovení redukujících sacharidů pro záměry této bakalářské práce. Není podstatné, o jaký přesně sacharid se jedná, ale o celkové množství sacharidů například v litru extraktu. Výše uvedené metody umožňují stanovit množství redukujících sacharidů ze složení reakční směsi s využitím tabulek. Nejrozšířenějšími metody jsou Bertrandova a Schoorlova metoda.

## **2.5 Stručný popis vybraných extrakčních postupů**

Existuje velké množství metod, které zajišťují extrakci barviv z materiálu rostlinného původu. Řada faktorů má vliv na průběh extrakce, například teplota, délka procesu, hydromodul. Při extrakci probíhá přenos tepla a hmoty, což má určitý vliv na bioaktivní vlastnosti rostlinného materiálu. Cílem je vybrat nejvhodnější způsob extrakce, ale zároveň nejjednodušší a nejlevnější [32].

### **2.5.1 Extrakce**

Obecně, extrakce je difuzní metoda, kdy složka jedné fáze (kapalná nebo pevná) přechází do druhé, která je kapalná. Podmínkou extrakce je, aby nedocházelo k mísení obou fází.

Výlisky z plodů aronie obsahují velké množství anthokyanů, což jsou polární polyfenolické látky, které se dají dobře extrahovat jak polárními organickými rozpouštědly (např. ethanol, aceton atd.), tak i organickými kyselinami. Z potravinářského hlediska je však vhodným rozpouštědlem jen destilovaná voda, případně voda s oxidem siřičitým, ethanolem nebo osolená [35].

### **2.5.2 Macerace**

Je to vylouhování drogy za studena. Rostlinný materiál se přelije vodou o teplotě 15 až 20 °C a nechá se stát předepsanou dobu za občasného zamíchání. Potom se výluh odleje. Většinou jako rozpouštědlo se používá destilovaná voda, jelikož je dostupná, levná a pomáhá roztrhnout buněčnou stěnu plodů a tím pádem zjednoduší průběh difuzního procesu. Také se dají použít jiná rozpouštědla jako třeba ethanol nebo další alkoholy, buď samostatně, nebo ve vhodně zvoleném poměru s destilovanou vodou. Macerace se provádí při laboratorní teplotě 15–20 °C a průběžně roztok se míchá. Po skončení macerace se používají fyzikální nebo chemické metody stanovení výtěžnosti extrahované látky [32].

### **2.5.3 Digesce**

Digesce je metoda založená na obdobném principu jako macerace, avšak vylouhování extrahované látky se provádí za zvýšené teploty, což značně urychluje proces. Extrakci lze provádět v Soxhletově extrakčním přístroji [35].

### **3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST**

#### **3.1 Laboratorní vybavení**

##### **3.1.1 Pomůcky**

- běžné laboratorní sklo Simax
- exsikátor
- Petriho misky
- automatické pipety 100 - 1000  $\mu$ l, 5 ml a 10 ml, špičky
- skleněné zkumavky, stojan na zkumavky
- filtrační papír
- filtrační kelímek S4
- vodní vývěva
- křemenné kyvety

##### **3.1.2 Přístroje**

- lednička s mrazničkou (Liebherr, Německo)
- mechanický lis (BS vinařské potřeby, ČR)
- sušárna Memmert UFE 550 (Memmert, Německo)
- analytické váhy (A&D Instruments, Japonsko)
- předvážky (A&D Instruments, Japonsko)
- elektrický vařič (ETA, ČR)
- UV-VIS spektrofotometr Helios  $\gamma$  (ThermoSpectronic, Velká Británie)
- Abbeho refraktometr (Zeiss, Německo)
- pH metr (Hanna Instruments, USA)
- magnetická míchačka (IKA-Werke, Německo)

##### **3.1.3 Chemikálie**

- chlorid draselný (Lachema, ČR)
- sodná sůl kyseliny octové (Lachema, ČR)
- koncentrovaná kyselina chlorovodíková (Penta, ČR)
- bezvodý uhličitán sodný (Lachema, ČR)
- Folin-Ciocalteuovo činidlo (Sigma-Aldrich, USA)
- kyselina gallová (Sigma-Aldrich, USA)
- hydroxid draselný (Mach, ČR)
- dihydrát kyseliny šťávelové (Penta, ČR)
- ethanol (Penta, ČR)
- manganistan draselný (Mach, ČR)
- síran železitý (Chemapol, ČR)
- vínan draselný-sodný (Penta, ČR)
- pentahydrát síranu měďnatého (Lach-Ner, ČR)



### 3.2 Příprava studovaných vzorků z plodů aronie

Plody aronie pocházely od soukromého pěstitele z obce Pavlov na Vysočině. Ihned po sběru v září 2016 byly uchovány v mrazicím boxu při teplotě  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

#### 3.2.1 Lisování

Plody aronie byly vyjmuty z mrazničky, byly vloženy do klasického mechanického vinařského lisu a po rozmražení byly vylisovány (Obrázek 7). Získaná šťáva byla uchovávána v mrazáku v plastové láhvi. Výlisky byly usušeny při teplotě  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  do konstantní hmotnosti, aby se nekazili a byly uchovány v alobalu a ve tmě.



Obrázek 7: mechanický vinařský lis

#### 3.2.2 Extrakce

Je to difusní operace, kdy složka přechází z jedné fáze do druhé, a přitom jedná fáze je kapalná nebo pevná, druhá je kapalná.

Bylo naváženo 25 g připravených suchých výlisků z aronie s přesností na čtyři desetinná místa. Kvantitativně byly převedeny do Erlenmeyerovy baňky na 500 ml a přelity 100 ml vody. Baňka byla uzavřena alobalem, prudce protřepána a uchována ve tmě při laboratorní teplotě. Obdobně byl připraven další vzorek s rozpouštědlem voda:ethanol v poměru 1:1. V intervalech po hodině byly odebírány vzorky po 1 ml do mikrozkuumavek (typ Eppendorf) a přidán 1 ml příslušného rozpouštědla. Stejným způsobem bylo odebráno dalších 14 extraktů.

Extrakce rozpouštědlem voda:ethanol v poměru 1:1 byla zopakována ještě jednou. V tomto případě byly odebrány vzorky pouze ve 13., 14. a 15 hodině extrakce, tj na počátku maxima závislosti koncentrace anthokyanů na čase.

### 3.3 Příprava vzorků čajů

Do 1000 ml kádinky se nasype 1 čajová lžička aroniového čajů a poté kvantitativně do kádinky se převede 200 ml horké vody o teplotě 90 °C a vzorky se nechají vyluhovat. Po 5 minutách louhování se odebere dvakrát přibližně 50 ml čajů (vzorky číslo 1.1 a 1.2) na další stanovení. Po dalších 5 minutách (celkem po 10 minutách) se znova odebere 50 ml na vzorky číslo 2.1 a 2.2.



Obrázek 8: Připravené vzorky čajů Tokov

### 3.4 Stanovení celkové sušiny

Na analytických vahách byly zváženy prázdné vysušené Petriho misky. Na ně bylo vloženo přibližně 10 plodů aronie a vše bylo zváženo na 4 desetinná místa. Takto připravené vzorky byly vloženy do sušárny vyhřáté na teplotu 45 °C. Při této teplotě byly vzorky sušeny přibližně 2 dny. Počáteční nízká teplota se používá proto, aby plody prudce nepraskaly. Potom byla teplota zvýšena na 60 °C a vzorky byly sušeny 24 hodin. Na závěr byla teplota zvýšena na 105 °C a ovoce sušeno do konstantní hmotnosti. Vysušené misky se vzorky byly přeneseny do exsikátoru a po vychladnutí zváženy.

Obsah sušiny  $w_s$ , vyjádřený v procentech se vypočítá podle:

$$w_s = \frac{m_n}{m_m} \cdot 100 \%, \quad (6)$$

kde:

$m_n$  – hmotnost vzorku po vysušení [g],

$m_m$  – hmotnost vzorku před vysušením [g].



### 3.5 Stanovení hodnoty pH

Hodnota pH je záporná hodnota logaritmu koncentrace vodíkových iontů v molech na litr roztoku

Nejprve se provede kalibrace pH metru podle návodu výrobce. Potom se elektroda přístroje ponoří do kádinky se vzorkem a po ustálení se odečte hodnota pH z displeje přístroje.

### 3.6 Stanovení titrační kyselosti

Vzorek se titruje na pH-metru roztokem louhu, až do dosažení pH 7,0.

*Standardizace odměrného roztoku hydroxidu sodného:* Nejprve se vypočte hmotnost dihydrátu kyseliny šťavelové potřebná pro přípravu 100 ml roztoku o koncentraci  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ . Vypočtené množství se diferenčně odváží s přesností na čtyři desetinná místa, kvantitativně se převede do odměrné baňky na 100 ml a doplní destilovanou vodou po značku. Z tohoto roztoku se pipetuje do titrační baňky přesně 10 ml, přidají se tři kapky roztoku fenolftaleinu a titruje se odměrným roztokem hydroxidu sodného do prvního trvalého růžového zbarvení. Titrace se provede třikrát a z průměrné spotřeby se vypočítá přesná koncentrace odměrného roztoku hydroxidu sodného.

*Vlastní stanovení:* 25 ml vzorku se titruje za stálého míchání odměrným roztokem hydroxidu draselného o koncentraci ( $c = 0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ).

$$c_{H^+} = \frac{1000 \cdot V_1 \cdot c}{V_0}, \quad (7)$$

kde:

$V_0$  – objem vzorku při titraci [ml],

$V_1$  – objem odměrného roztoku hydroxidu sodného [ml],

$c$  – přesná koncentrace roztoku hydroxidu draselného [ $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ].

### 3.7 Stanovení refraktometrické sušiny

Mezi indexem lomu světla a koncentrací roztoků je vzájemná souvislost, která se využívá na stanovení refraktometrické sušiny. V příslušné tabulce se vyhledá odpovídající sušina [27].

Na začátku měření je třeba nastavit nulovou polohu refraktometru proti destilované vodě. Potom se hranoly znovu odklopí, vzorek se nanese na spodní hranol tyčinkou tak, aby celá plocha hranolu byla pokrytá vzorkem. Dále se odečte index lomu s přesností na čtyři desetinná místa. Měření se provádí třikrát a vypočítá se aritmetický průměr.

Z odečtené hodnoty indexu lomu se vyhledá v tabulce odpovídající množství sušiny v hmotnostních procentech. Pokud vzorek byl naředěn, vynásobí se faktorem zředění.

### 3.8 Stanovení redukujících sacharidů

V této práci byly zvoleny dvě nejběžnější metody stanovení redukujících sacharidů, a to je gravimetrická metoda a metoda podle Bertranda.

#### 3.8.1 Stanovení redukujících sacharidů podle Bertranda

Z Fehlingových roztoků vyredukovaný oxid měďný se rozpustí v kyselém roztoku síranu železitého. Oxid měďný zredukuje  $\text{Fe}^{3+}$  na  $\text{Fe}^{2+}$ . Síran železnatý se stanoví manganometricky [27], [32].

*Standardizace odměrného roztoku manganistanu draselného:* Nejprve se odváží 0,6303 g dihydrátu kyseliny šťavelové s přesností na čtyři desetinná místa. Potom se navážka kvantitativně převede do odměrné baňky na 100 ml, rozpustí se a doplní vodou po značku. Z tohoto standardního roztoku se pipetuje 10 ml do titrační baňky, okyselí se 5 ml roztoku kyseliny sírové a z byrety se přidá asi 1 ml odměrného roztoku manganistanu. Titrační baňka se zahřeje asi na 60 °C a po odbarvení roztoku se pokračuje v titraci až do prvního slabě růžového zbarvení, které je stále nejméně 30 sekund. Titrace se provede třikrát a vypočítá se průměrná spotřeba.

*Vlastní stanovení:* Do Erlenmeyerovy baňky na 100 ml se nepipetuje po 20 ml Fehlingova roztoku I a II, potom do zahřáté směsi se přidá 10 ml cukerného roztoku a směs se zahřívá k varu. Po 2 minutách varu se baňka ochladí proudem studené vody. Sraženina oxidu měďného klesne ke dnu a kapalina se dekantuje přes filtrační kelímek S4. Oxid měďný v baňce i ve filtračním kelímku se vždy udržuje pod hladinou kapaliny. Po dokonalém promytí horkou vodou se odstraní měďnaté ionty a sraženina se rozpustí v přibližně 50 ml síranu železnatém v čisté odsávací baňce. Roztok se ihned titruje odměrným roztokem manganistanu draselného do slabě růžového zbarvení.

Spotřeba 1 ml roztoku manganistanu draselného o koncentraci  $0,020 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  odpovídá 3,315 mg redukujících cukrů.

#### 3.8.2 Stanovení redukujících sacharidů pomocí gravimetrie

Redukující cukry vyredukuje z Fehlingova roztoku oxid měďný, který se po přefiltrování vysuší a zváží. Z jeho hmotnosti se vypočítá množství redukujících cukrů [27], [32].

Do Erlenmeyerovy baňky na 100 ml se nepipetuje po 20 ml Fehlingova roztoku I a II, potom do zahřáté směsi se přidá 10 ml cukerného roztoku a směs se zahřívá k varu. Po 2 minutách varu se baňka ochladí proudem studené vody. Sraženina oxidu měďného klesne ke dnu a kapalina se dekantuje přes filtrační kelímek S4. Potom se sraženina kvantitativně převede na fritu a dokonale se promyje horkou vodou a třikrát ethanolem. Filtrační kelímek se vloží do vyhřáté sušárny a suší se přesně 45 minut při teplotě 105 °C. Po vychladnutí v exsikátoru filtrační kelímek typu S4 se zváží.

1 mg oxidu měďného odpovídá 0,462 mg redukujících cukrů.

### 3.9 Stanovení celkových fenolických látek

Metoda je založena na reakci molybdenanu sodného a wolframanu sodného s fenolickými látkami v alkalickém prostředí, při kterém vzniká modře zbarvený komplex, jehož lze proměřit spektrofotometricky při vlnové délce 750 nm [27].

*Kalibrační řada:* Do šesti 10ml odměrných baněk se pipetuje 0,125; 0,25; 1,0; 2,0; a 4,0 ml standardního roztoku kyseliny gallové a doplní se destilovanou vodou po značku. Připraví se tedy roztoky o koncentraci 10,0; 12,5; 25, 100, 200 a 400 mg·dm<sup>-3</sup>.

*Vlastní stanovení:* Do kalibrační rády a nachystaných zkumavek pro blank a vlastní vzorek se přidá 0,1 ml Folin Ciocalteuova činidla a 1,8 ml destilované vody. Potom se přidá 0,1 ml analyzovaného vzorku a do blanku místo vzorku se přidá 0,1 ml destilované vody. Roztoky byly promíchány a ponechány stát 5 minut. Následně byl do každé zkumavky přidán 1,0 ml 7,5% roztoku uhličitanu sodného a obsah byl opět promíchán a roztoky byly ponechány stát 2 hodiny. Nakonec u roztoku byla změřena absorbance při vlnové délce 750 nm.

Z rovnice regrese kalibrační křivky se vypočítá celkový obsah fenolických látek ve vzorcích jako ekvivalent kyseliny gallové (GAE) v mg·dm<sup>-3</sup>.

### 3.10 Stanovení celkových anthokyanových barviv

Pro stanovení celkových anthokyanů byla použita spektrofotometrická pH-diferenční metoda. Metoda je založena na změně absorpčního spektra anthokyanů v závislosti na pH. Měření rozdílu absorbancí probíhá při vlnové délce 510–520 nm, při které u anthokyanů dochází k maximální absorpci záření.

Do zkumavky se napipetuje 0,5 ml zředěného vzorku a do jedné sady zkumavek se přidá 2,5 ml acetátového pufru o pH 4,5 a do druhé chloridového pufru o pH 1. Nakonec se změří absorbance proti vodě nejdříve při 510 nm a potom při 700 nm pro korekci chyb měření způsobené zákalem.

$$A = (A_{510} - A_{700})_{KCl} - (A_{510} - A_{700})_{AcOH} \quad (8)$$

$$c = \frac{A \cdot M \cdot F \cdot 10^3}{\varepsilon \cdot l}, \quad (9)$$

kde:

c – výsledná koncentrace monomerního pigmentu ve vzorku mg·dm<sup>-3</sup>,

A – výsledná hodnota absorbance,

M – molekulová hmotnost pro kyanidin-3-galaktosid (449,2 g·dm<sup>-3</sup>),

F – faktor ředění (–),

ε – molární absorpční koeficient pro kyanidin-3-galaktosid (26 900 l·mol<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>),

l – délka kyvety [cm].

## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

V této bakalářské práci byly stanoveny základní chemické charakteristiky aroniové šťávy, čaje z drcených plodů aronie a extraktů z výlisků. Stanovené hodnoty jsou vzájemně porovnány a diskutovány.

### 4.1 Stanovení celkové sušiny aroniových plodů

Plody aronie byly sušeny podle postupu uvedeného v kapitole 3.4. Výsledky jsou shrnuty v následující tabulce.

Tabulka 4: Výsledky stanovení sušiny sušením

hmotnost		s Petriho miskou [g]	bez Petriho misky [g]	Sušina [%]
prázdné Petriho misky	m <sub>1</sub>	47,3308	-	-
	m <sub>2</sub>	47,3428	-	-
s navážkou aronie	m <sub>1</sub>	58,9753	11,6445	-
	m <sub>2</sub>	57,4849	10,1421	-
po 1. vysušení	m <sub>1</sub>	49,4432	2,1124	18,1
	m <sub>2</sub>	49,3248	1,9820	19,5
po 2. vysušení	m <sub>1</sub>	49,4280	2,0972	18,0
	m <sub>2</sub>	49,3115	1,9687	19,4
po 3. vysušení	m <sub>1</sub>	49,4309	2,1001	18,0
	m <sub>2</sub>	49,3155	1,9727	19,5
po 4. vysušení	m <sub>1</sub>	49,4271	2,0963	18,0
	m <sub>2</sub>	49,3113	1,9685	19,4

- Příklad výpočtu sušiny sušením po 1 vysušení pro m<sub>1</sub>:

$$w_s = \frac{m_s}{m_n} = \frac{2,1124}{11,6445} \cdot 100 \% = \underline{\underline{18,1 \%}}$$

Celková sušina aroniových plodů se pohybovala v rozmezí 18,0 až 19,5 %. Obsah vody v plodech je tedy 80,5 až 82,0 %. Výliskost aroniové šťávy se udává přibližně 75 % [5]. Tzn., že průmyslově získané výlisky aronie by mohly obsahovat ještě až 7 % vody.

## 4.2 Stanovení hodnoty pH

Podle postupu uvedeného v kapitole 3.5 bylo stanoveno pH v aroniové šťávě, v nejlepších extraktech výlisků plodů aronie a v analyzovaných vzorcích čajů. Každé měření bylo provedeno třikrát, ze získaných hodnot byl vypočítán aritmetický průměr.

### *Ve šťávě z plodů aronie*

*Tabulka 5: Naměřené hodnoty pH u aroniové šťávy*

číslo měření	1	2	3	průměr
pH	3,42	3,42	3,41	3,42

### *V nejlepších extraktech výlisků plodů aronie*

Extrakt výlisků z plodů aronie, který byl odebrán po 13 hodině je označen jako vzorek č.1, vzorek č.2 byl odebrán po 14 hodině a poslední vzorek č.3 byl odebrán po 15 hodině.

*Tabulka 6: Naměřené hodnoty pH u nejlepších extraktů z výlisků*

číslo vzorků	1	2	3
pH	3,89	3,92	3,94

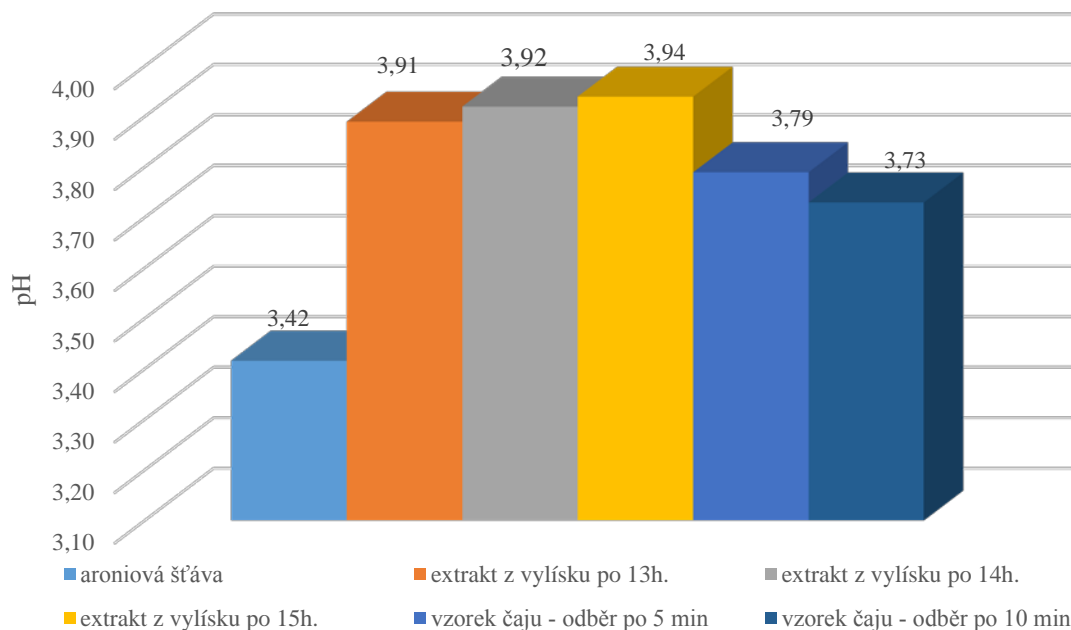
### *V analyzovaném vzorku čaji*

Vzorky čajů, které byly vyluhovány 5 minut jsou označeny 1 a 2 a vzorky čajů, které byly odebrány po 10 minutách louhování jsou označeny jako 3 a 4.

*Tabulka 7: Naměřené hodnoty pH analyzovaných vzorků čajů*

číslo vzorků	1	2	3	4
pH	3,78	3,8	3,75	3,71

## Porovnání výsledků



Obrázek 9: hodnoty pH analyzovaných vzorků

Hodnoty pH se pohybovali v rozmezí 3,42 až 3,94, což je patrné z obrázku 9. Největší hodnotu pH obsahoval extrakt odebraný po 15 hodině. Nejmenší hodnotu pH obsahovala vylisovaná aroniová šťáva. Podle literatury aronie má hodnotu pH v rozmezí 3,3–3,9 [2].

### 4.3 Stanovení titrační kyselosti

Podle postupu uvedeného v kapitole 3.6 byla stanovena titrační kyselost v aroniové šťávě, v nejlepších extraktech vylisků plodů aronie a v analyzovaných vzorcích čajů. Každé měření bylo provedeno třikrát, ze získaných hodnot byl vypočítán aritmetický průměr.

Tabulka 8: Spotřeby hydroxidu draselného při standardizaci KOH kyselinou šťávelovou

$m_{\text{kys}} [\text{g}]$	1,2640			
číslo měření	1	2	3	průměr
$V_{\text{KOH}} [\text{ml}]$	7,80	7,90	7,70	7,80

$$c_{\text{KOH}} = \frac{m_{\text{kys.šť.}}}{5 \cdot M_{\text{kys.šťávelov}} \cdot V_{\text{KOH}}} = \frac{1,2640}{5 \cdot 126,07 \cdot 0,00780} = \underline{\underline{0,2571 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}}}$$

### ***Ve šťávě z plodů aronie***

Pro měření titrační kyselosti bylo použito 25 ml analyzovaného vzorku aroniové šťávy.

*Tabulka 9: Spotřeba hydroxidu draselného při stanovení titrační kyselosti šťávy*

číslo měření	1	2	3	průměr
V <sub>KOH</sub> [ml]	13,7	13,6	13,8	13,7

$$c_{H^+} = \frac{1000 \cdot V_1 \cdot c}{V_0} = \frac{1000 \cdot 13,7 \cdot 0,2571}{25} = \underline{\underline{140,9 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}}}$$

### ***V nejlepších extraktech výlisků plodů aronie***

Při měření titrační kyselosti v nejlepších extraktech byla potřeba použít menší množství vzorku (viz Tabulka 10), jelikož z výlisků se vyextrahovalo poměrně malé množství roztoku. Extrakt výlisků z plodů aronie, který byl odebrán po 13 hodině je označen jako vzorek č.1, vzorek č.2 byl odebrán po 14 hodině a poslední vzorek č.3 byl odebrán po 15 hodině.

*Tabulka 10: Naměřené hodnoty při stanovení titrační kyselosti extraktů výlisků*

číslo vzorků	1	2	3
V <sub>vz</sub> [g]	5,8162	6,0348	12,4133
V <sub>KOH</sub> [ml]	1,60	1,75	3,40
c <sub>H+</sub> [mmol·l <sup>-1</sup> ]	70,7	74,6	70,4

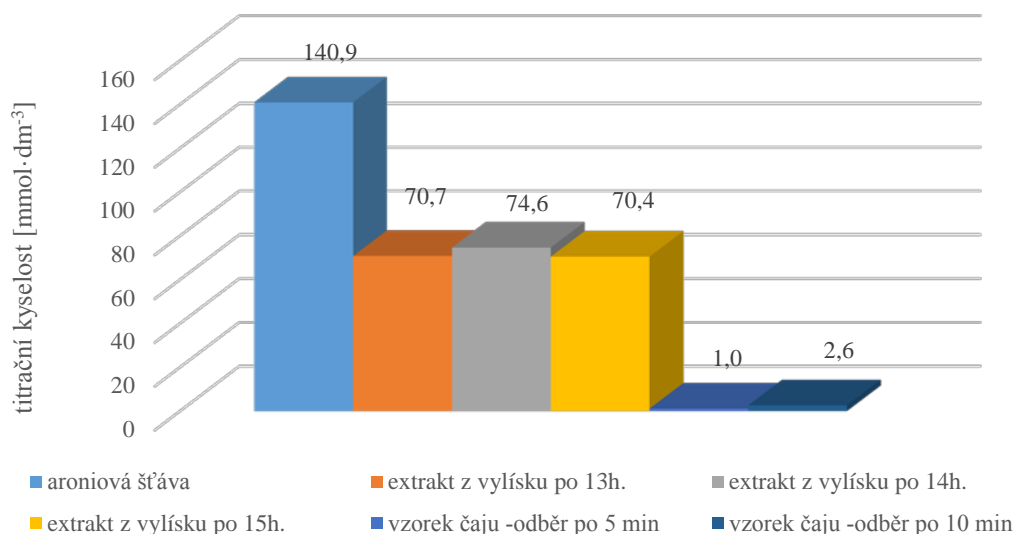
### ***V analyzovaném vzorku čaji***

Množství analyzovaných vzorků čajů, které byly použity na stanovení jsou uvedeny v tabulce 11 Vzorky čajů, které byly vyluhovány 5 minut jsou označeny 1 a 2 a vzorky čajů, které byly odebrány po 10 minutách louhování jsou označeny jako 3 a 4.

*Tabulka 11: Naměřené hodnoty při stanovení titrační kyselosti čajů*

číslo vzorků	1	2	3	4
V <sub>vz</sub> [g]	30,7271	32,1004	33,5280	45,9696
V <sub>KOH</sub> [ml]	0,15	0,10	0,35	0,45
c <sub>H+</sub> [mmol·l <sup>-1</sup> ]	1,26	0,8	2,7	2,5

## Porovnání výsledků



Obrázek 10: Stanovení titrační kyselosti analyzovaných vzorků

Nejvyšší stanovená hodnota titrační kyselosti byla naměřená u aroniové šťávy, která byla čerstvě vylisovaná a uchovávaná v plastové láhvi v mrazáku, která činí 140,9 mmol·dm<sup>-3</sup>. Nejnížší hodnota titrační kyselosti 1,0 mmol·dm<sup>-3</sup> byla zaznamenána u vzorku aroniového čaju, který byl odebrán po pěti minutách louhování.

## 4.4 Stanovení refraktometrické sušiny

Podle kapitoly 3.7 byla stanovena refraktometrická sušina v aroniové šťávě, v nejlepších extraktech vylísků plodů aronie a v analyzovaných vzorcích čajů. Každé měření bylo provedeno třikrát, ze získaných hodnot byl vypočítán aritmetický průměr. Pomocí refraktometrů byl odečten třikrát index lomu. Pro získané hodnoty bylo nalezeno v mezinárodní stupnici vztahu koncentrace a indexů lomu roztoků při 20 °C odpovídající množství sušiny v hmotnostních procentech [34].

### *Ve šťávě z plodů aronie*

Výsledek byl dvakrát vynásoben kvůli zředění, jelikož analyzovaný vzorek byl příliš tmavý.

Tabulka 12: Obsah cukerné sušiny v aroniové šťávě

číslo měření	1	2	3	průměr
index lomu	1,3465	1,3485	1,3456	1,3469
množství sušiny [hm. %]	18,80			



### ***V nejlepších extraktech vylisků***

Extrakty měli hodně tmavou barvu, takže byly zředěny 0,2 ml vzorků: 0,4 ml vody. Extrakt vylisků z plodů aronie, který byl odebrán po 13 hodině je označen jako vzorek č.1, vzorek č.2 byl odebrán po 14 hodině a poslední vzorek č.3 byl odebrán po 15 hodině.

*Tabulka 13: Průměr z obsahu cukerné sušiny v extraktech z vylisků z aronie*

číslo vzorků	1	2	3
index lomu	1,3435	1,3420	1,3420
množství sušiny [hm. %]	28,52	24,52	24,52

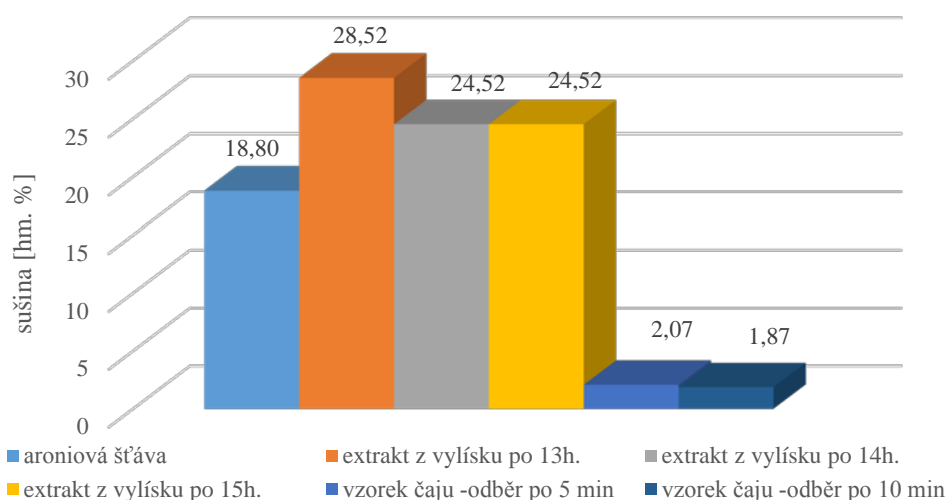
### ***V analyzovaném vzorku čaji***

Vzorky čajů nebyly příliš koncentrované, což umožnilo měřit index lomu bez ředění. Vzorky čajů, které byly vyluhovány 5 minut jsou označeny 1 a 2 a vzorky čajů, které byly odebrány po 10 minutách louhování jsou označeny jako 3 a 4.

*Tabulka 14: Průměr z obsahu cukerné sušiny ve vzorcích čajů*

číslo vzorků	1	2	3	4
index lomu	1,3360	1,3360	1,3354	1,3360
množství sušiny [hm. %]	2,07	2,07	1,67	2,07

### ***Porovnání výsledků***



*Obrázek 11: Množství refraktometrické sušiny analyzovaných vzorků*

Z obrázku 11 je vidět, že nejvyšší hodnota refraktometrické sušiny byla stanovena na 28,5 hm. % v extraktu z výlisků plodů aronie, který byl odebrán po 13 hodině. Nejnížší hodnota refraktometrické sušiny byla naměřena u vzorků aroniového čaju a činí 1,9 hm. %. Vysoká hodnota refraktometrické sušiny u všech tří extraktů v porovnání s obsahem redukujících sacharidů (stanovených v následující kapitole) je patrně způsobena přítomností dalších látek, které ovlivňují index lomu a jsou přítomny v extraktu (další cukry, pektiny aj.).

## 4.5 Stanovení redukujících sacharidů

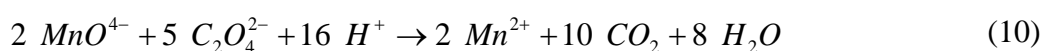
Byly použity dvě metody stanovení redukujících sacharidů a cílem bylo experimentálně zjistit, která z těchto metod je přesnější a citlivější.

### 4.5.1 Stanovení redukujících sacharidů podle Bertranda

Podle kapitoly 3.8.1 bylo stanoveno množství redukujících sacharidů v aroniové šťávě, v nejlepších extraktech výlisků plodů aronie a v analyzovaných vzorcích čajů.

Tabulka 15: Navážky a spotřeba manganistanu draselného při standardizaci

$m_v$ – navážka vzorků [g]	2,1275			
$m_{nav}$ – navážka dihydrátu kyseliny šťavelové [g]	0,6326			
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>průměr</b>
$V_{KMnO_4}$ [ml]	9,85	9,90	9,80	9,85



$$c_{KMnO_4} = \frac{2}{5} \cdot \frac{m_{nav} \cdot V_{H_2C_2O_4}}{M_r \cdot V_{KMnO_4} \cdot V_{odm.}} = \frac{2}{5} \cdot \frac{0,6326 \cdot 0,01}{126,065 \cdot 0,00985 \cdot 0,1} = 0,0204 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$$

#### *Ve šťávě z plodů aronie*

Spotřeba 1 ml roztoku manganistanu draselného o koncentraci  $0,02 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  odpovídá 3,315 mg redukujících cukrů.

$$x = \frac{0,0204 \cdot 3,315}{0,02} = 3,3775 \text{ mg}$$

Spotřeba při titraci aroniové šťávy činí 5,1 ml

$$x = \frac{5,1 \cdot 3,3775}{1} = 17,2252 \text{ mg}$$

$$x \cdot f_{\%} = 17,2252 \cdot 10 = 172,2523$$

Obsah redukujících sacharidů ve vzorku:

$$w = \frac{x}{m_{\text{sirup}}} \cdot 100 = \frac{0,1722}{2,1275} \cdot 100 = \underline{\underline{8,1 \, \%}}$$

### ***V nejlepších extraktech výlisků***

Stejným způsobem jako u aroniové šťávy bylo provedeno stanovení redukujících sacharidů a následně vypočítané množství. Výsledky obsahu cukrů jsou uvedeny v tabulce 21. Extrakt výlisků z plodů aronie, který byl odebrán po 13 hodině je označen jako vzorek č.1, vzorek č.2 byl odebrán po 14 hodině a poslední vzorek č.3 byl odebrán po 15 hodině.

*Tabulka 16: Spotřeby manganistanu draselného při stanovení redukujících cukrů ve výliscích*

<b>m<sub>v</sub></b> – navážka vzorků [g]	1,8619	1,8462	1,8638
<b>číslo vzorků</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
V <sub>KMnO4</sub> [ml]	1,55	1,65	1,40

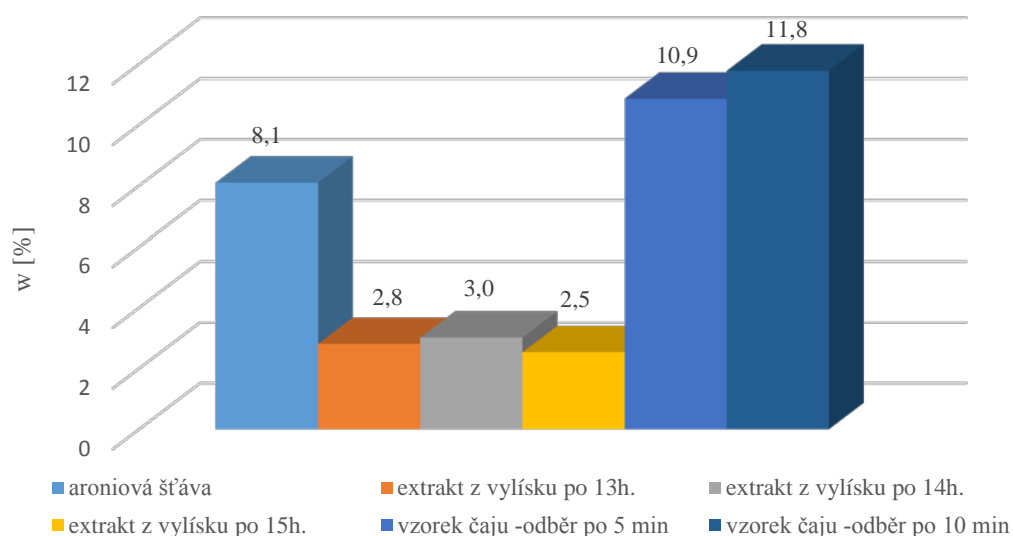
### ***V analyzovaném vzorku čaji***

Při stanovení redukujících sacharidů podle Bertranda v čaji byl změněn faktor zředění, bylo odebráno místo deseti mililitrů jenom pět. Výsledky obsahu redukujících sacharidů jsou uvedeny v tabulce 21. Vzorky čajů, které byly vyluhovány 5 minut jsou označeny 1 a 2 a vzorky čajů, které byly odebrány po 10 minutách louhování jsou označeny jako 3 a 4.

*Tabulka 17: Spotřeby manganistanu draselného při stanovení redukujících cukrů v čaji*

<b>m<sub>v</sub></b> – navážka vzorků [g]	2,2080			
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
V <sub>KMnO4</sub> [ml]	1,80	1,75	1,95	1,90

## Porovnání výsledků



Obrázek 12: Obsah redukcí sacharidů podle Bertranda v analyzovaných vzorcích

Obsah redukcí sacharidů při stanovení podle Bertranda je uveden v tabulce 21. Nejvíce redukcí cukrů mezi stanovovanými vzorky obsahují vzorky čajů. V čaji, který se luhoval 5 minut, bylo stanoveno 10,9 % redukcí cukrů a 11,8 % redukcí sacharidů bylo stanoveno ve vzorku čaje, který se luhoval 10 minut. Nejméně redukcí sacharidů je zastoupeno ve vzorku extraktu z vylísku po 15 hodině a to činí 2,5 %. Podle literatury obsah sacharidů v plodech aronie se pohybuje v rozmezí 16–18 % [2].

### 4.5.2 Stanovení redukcí sacharidů pomocí gravimetrie

Podle kapitoly 3.8.2 bylo stanoveno množství redukcí sacharidů gravimetricky v aroniové šťávě, v nejlepších extraktech vylísku plodů aronie a v analyzovaných vzorcích čajů.

#### ***Ve šťávě z plodů aronie***

Tabulka 18: Navážky při stanovení redukcí cukrů v aroniové šťávě

	1	2	3
$m_v$ – navážka vzorků [g]	2,1275		2,0806
$m_k$ – hmotnost kelímku [g]	26,7164		25,5614
$m_2$ – hmotnost kelímku s $Cu_2O$ [g]	26,7889	26,7867	25,6267
$m_{oxid}$ – hmotnost $Cu_2O$ [g]	0,0725	0,0703	0,0653
$m$ – hmotnost vzorků [mg]	0,1675	0,1624	0,1508

### Příklad výpočtu pro 1. měření

1 mg oxidu měďného odpovídá 0,462 mg redukujících cukrů. Faktor zředění je 5.

$$x = \frac{72,5 \cdot 0,462}{1} = 33,495 \cdot 5 = 167,475 \text{ mg}$$

Obsah redukujících sacharidů ve vzorku:

$$w = \frac{x}{m_{\text{sirup}}} \cdot 100 = \frac{0,1675}{2,1275} \cdot 100 = \underline{\underline{7,9 \%}}$$

### V nejlepších extraktech výlisků

Extrakt výlisků z plodů aronie, který byl odebrán po 13 hodině je označen jako vzorek č.1, vzorek č.2 byl odebrán po 14 hodině a poslední vzorek č.3 byl odebrán po 15 hodině.

Tabulka 19: Navážky při stanovení redukujících cukrů v extraktů z výlisku

číslo vzorků	1	2	3
$m_v$ – navážka vzorků [g]	1,8619	1,8462	1,8638
$m_k$ – hmotnost kelímku [g]	27,6950	21,1567	26,6882
$m_2$ – hmotnost kelímku s $\text{Cu}_2\text{O}$ [g]	27,7140	21,1774	26,7083
$m_{\text{oxid}}$ – hmotnost $\text{Cu}_2\text{O}$ [g]	0,0190	0,0207	0,0201
$m$ – hmotnost vzorků [g]	0,0439	0,0478	0,0464

### V analyzovaném vzorku čaji

Vzorky čajů, které byly vyluhovány 5 minut jsou označeny 1 a 2 a vzorky čajů, které byly odebrány po 10 minutách louhování jsou označeny jako 3 a 4.

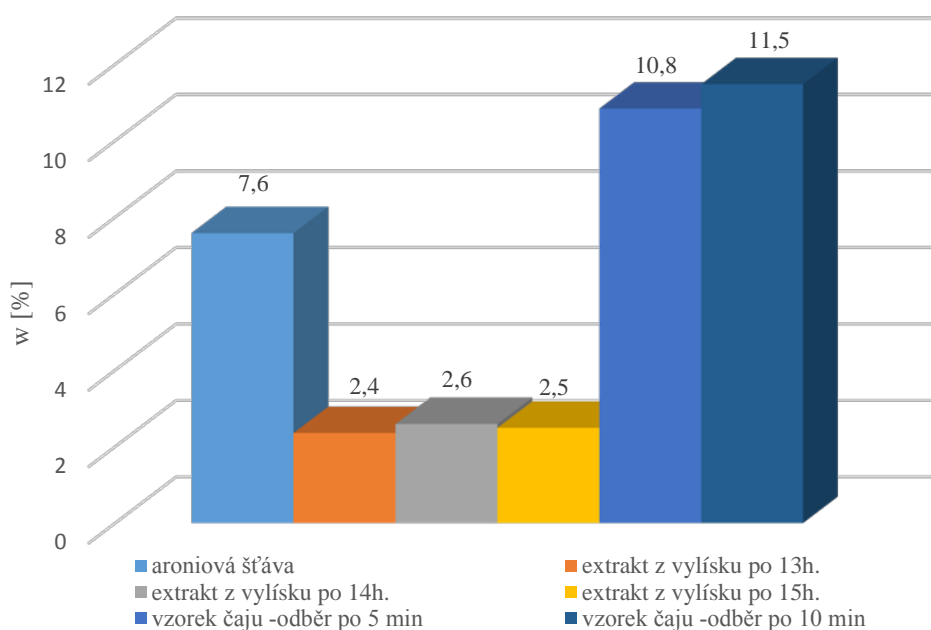
Tabulka 20: Navážky při stanovení redukujících cukrů ve vzorcích čajů

číslo vzorků	1	2	3	4
$m_v$ – navážka vzorků [g]	2,2080			
$m_k$ – hmotnost kelímku [g]	26,5184	30,0698	29,9929	25,5567
$m_2$ – hmotnost kelímku s $\text{Cu}_2\text{O}$ [g]	26,5707	30,1211	30,0482	25,6111
$m_{\text{oxid}}$ – hmotnost $\text{Cu}_2\text{O}$ [g]	0,0523	0,0513	0,0553	0,0544
$m$ – hmotnost vzorků [g]	0,2416	0,2370	0,2555	0,2513

### Porovnání výsledků

Tabulka 21: Obsah redukujících sacharidů při stanovení podle Bertranda (index 1) a gravimetricky (index 2)

	aroniová šťáva	extrakt z výlisků	čaj z aronie
w <sub>1.1</sub> [%]	8,1	2,8	11,0
w <sub>2.1</sub> [%]	-	3,0	10,7
w <sub>3.1</sub> [%]	-	2,5	11,9
w <sub>4.1</sub> [%]	-	-	11,6
w <sub>1.2</sub> [%]	7,9	2,4	10,9
w <sub>2.2</sub> [%]	7,6	2,6	10,7
w <sub>3.2</sub> [%]	7,2	2,6	11,6
w <sub>4.2</sub> [%]	-	-	11,4



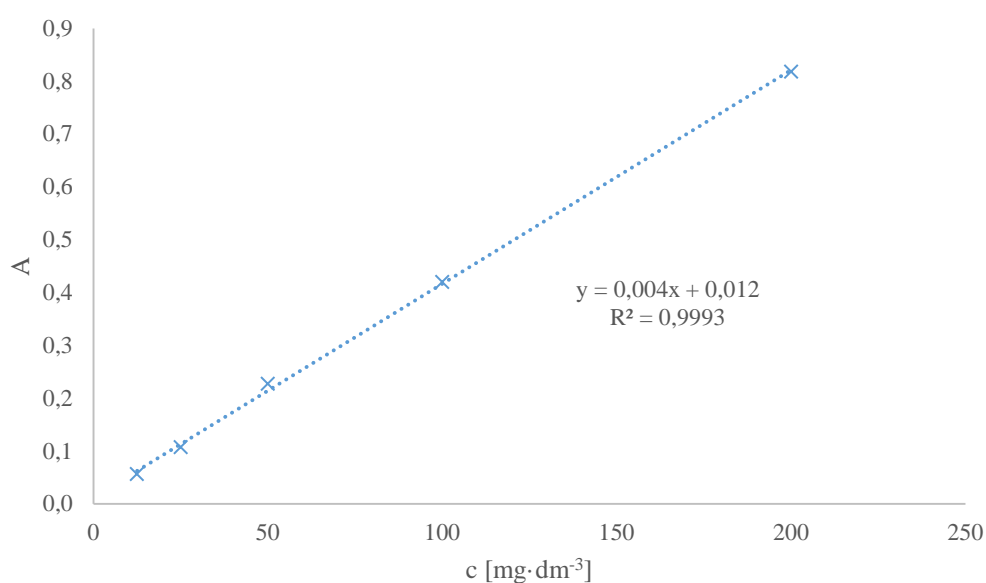
Obrázek 13: Obsah redukujících cukrů podle gravimetrie

Obdobně jako při stanovování podle Bertranda nejvyšší hodnotu redukujících sacharidů má vzorek čajů (odběr po 10 minutách) a to činí 11,5 %. Nejméně redukujících sacharidu je zastoupeno v extraktů z výlisků a to činí 2,4 %. Hodnoty redukujících sacharidů v analyzovaných vzorcích stanovené oběma metodami jsou přibližně stejné.

Při stanovení redukujících sacharidů podle Bertranda rozdíl dvou paralelních stanovení nemá být větší než 0,4 % a gravimetricky větší než 0,1 %. Z toho plyne, že stanovení gravimetricky je přesnější [34].

#### 4.6 Stanovení celkových fenolických látek

Podle kapitoly 3.9 byla stanovena koncentrace fenolických látek v aroniové šťávě, v nejlepších extraktech výlisků plodů aronie a v analyzovaných vzorcích čajů.



Obrázek 14: Kalibrační křivka kyseliny gallové pro stanovení fenolických látek

#### ***Ve šťávě z plodů aronie***

Tabulka 22: Naměřené hodnoty absorpance při měření fenolických látek ve šťávě při 750 nm

	1	2	3	průměr
A	0,108	0,101	0,104	0,104

$$A = 0,004 \cdot c + 0,012$$

$$c = \frac{0,104 - 0,012}{0,004} = \underline{\underline{23,0 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}}}$$

### ***V nejlepších extraktech vylisků***

Kvůli velké koncentraci anthokyanových barviv bylo nutné vzorek zředit 50krát, aby se dalo změřit absorpční v rozsahu lineární závislosti.

*Tabulka 23: Naměřené hodnoty absorpce při měření fenolických látek v nejlepších extraktech při 750 nm*

č. vzorků	1	2	3	průměr	c [mg·dm <sup>-3</sup> ]
po 13 h	0,488	0,491	0,490	0,490	119,4
po 14 h	0,527	0,516	0,533	0,525	128,3
po 15 h	0,506	0,493	0,502	0,500	122,1

### ***V analyzovaném vzorku čaji***

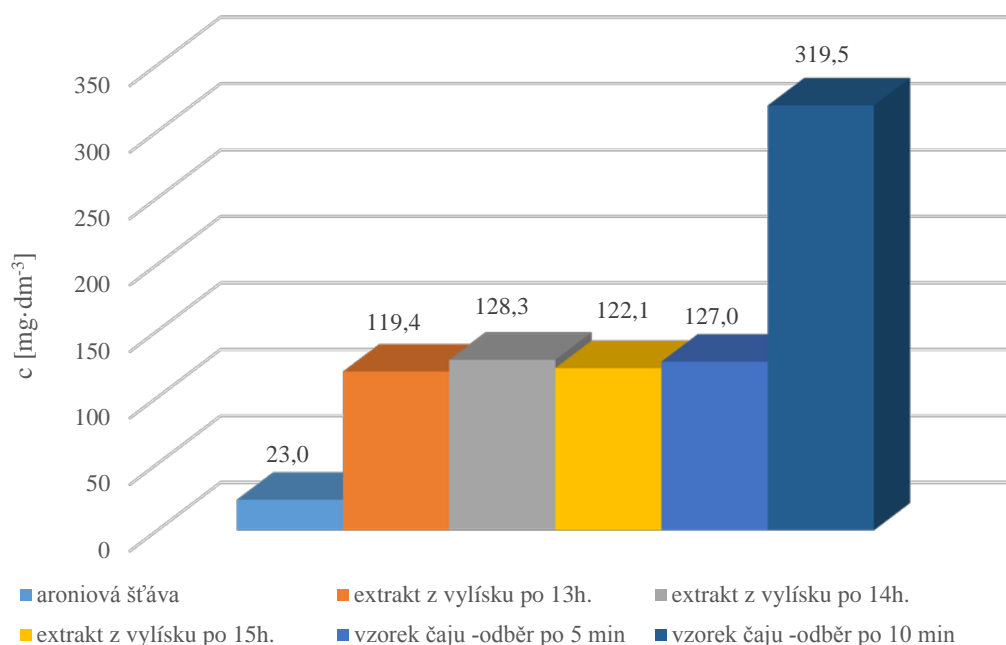
Roztoky nebyly zředěny, jelikož cílem bylo proměřit skutečnou koncentraci fenolických látek. Naměřené hodnoty odpovídají lineární závislosti daného spektrofotometru i přestože přesahují hodnotu absorpce 1,0.

*Tabulka 24: Naměřené hodnoty absorpce při měření fenolických látek ve vzorcích čajů při 750 nm*

č. vzorků	1	2	3	průměr	c [mg·dm <sup>-3</sup> ]
po 5 min	0,508	0,531	0,518	0,519	126,8
po 5 min	0,497	0,539	0,526	0,521	127,2
po 10 min	1,206	1,388	1,293	1,296	320,9
po 10 min	1,298	1,270	1,286	1,285	318,2



## Porovnání výsledků



Obrázek 15: Koncentrace fenolických látek v analyzovaných vzorcích

V hojném počtu jsou zastoupeny fenolické látky ve vzorku čajů, který byl vyluhován 10 minut a koncentrace činí  $319,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Nejmenší koncentrace byla stanovována na  $23,0 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  u aroniové šťávy. Literatura uvádí obsah fenolických látek v aronii 96 mg na 100 g [2].

## 4.7 Stanovení celkových anthokyanových barviv

Podle kapitoly 3.10 byla stanovena koncentrace anthokyanových barviv v aroniové šťávě, v nejlepších extraktech výlisků plodů aronie a v analyzovaných vzorcích čajů.

### Časový profil extrakce anthokyanových barviv

Cílem extrakce bylo zjistit nejlepší extrakt v námi zvolených rozpouštědlech. Při extrakci odběr vzorků byl proveden, co hodinu. Ze získaných hodnot pomoci stanovení celkových anthokyanových barviv pomoci pH-diferenciální metody byl nalezen nejlepší extrakt.

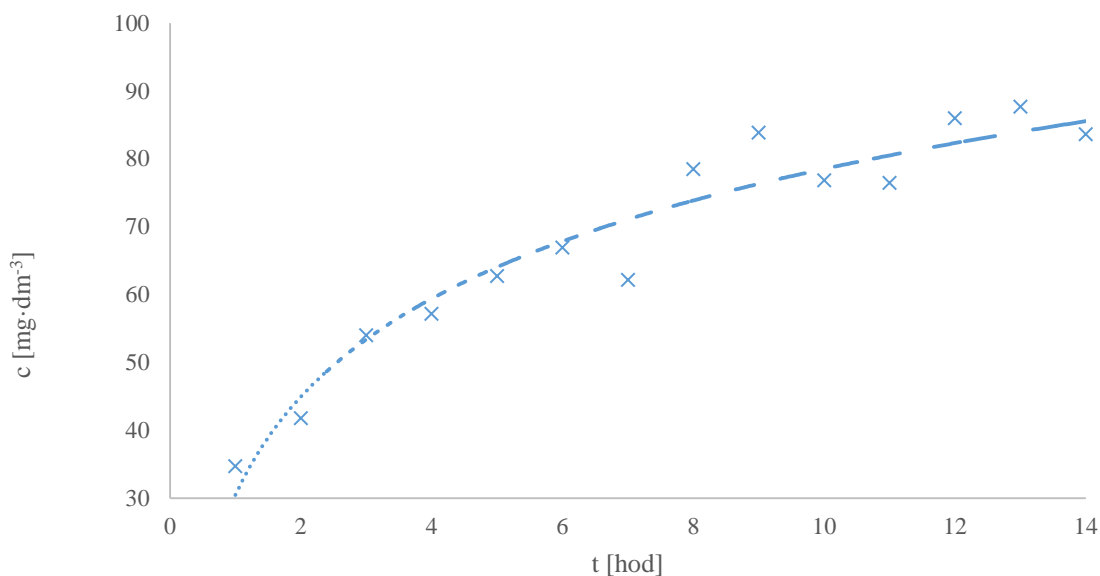
Kvůli velkému obsahu anthokyanových barviv ve vzorku aronie bylo nutno provést ředění. U extraktu voda při měření anthokyanů bylo odebráno 0,6 ml vzorků do 10 ml odměrné baňky a baňka byla doplněna po rysku a důkladně promíchána. Extrakt voda:EtOH v poměru 1:1 byl značně tmavší, u prvních 5 vzorků bylo odebráno 0,4 ml do 10 ml odměrné baňky a u následujících 8 bylo odebráno 0,25 ml do 10 ml odměrné baňky.

Naměřené hodnoty absorbance a výsledky koncentrací anthokyanových barviv jsou uvedeny v příloze v tabulce 32 a tabulce 33.

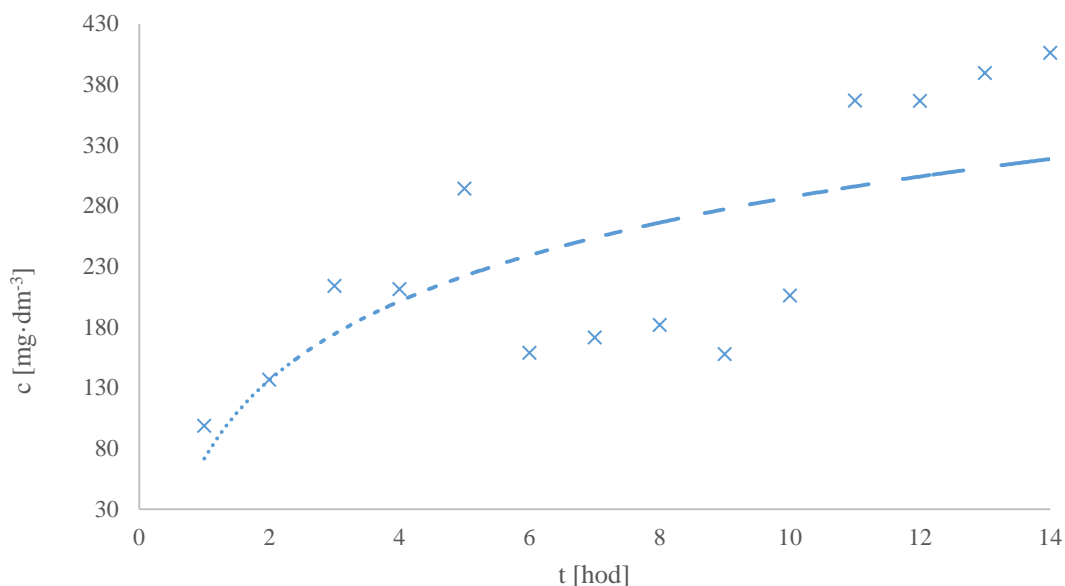
**Příklad je uveden pro extrakt č.1 s použitím vody jako rozpouštědla:**

$$A = (A_{510} - A_{700})_{KCl} - (A_{510} - A_{700})_{AcOH} = (0,134 - 0,002) - (0,016 - 0,008) = 0,125$$

$$c = \frac{A \cdot M \cdot F \cdot 10^3}{\varepsilon \cdot l} = \frac{0,125 \cdot 449,2 \cdot 16,67 \cdot 10^3}{26900 \cdot 1} = \underline{\underline{34,7 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}}}$$



*Obrázek 16: Logaritmická závislost koncentrace anthokyanových barviv na časovém intervalu (rozpuštědlo voda)*



*Obrázek 17: Logaritmická závislost koncentrace anthokyanových barviv na časovém intervalu (rozpuštědlo EtOH:voda)*

### ***Ve šťávě z plodů aronie***

1 ml vzorku aroniové šťávy byl kvantitativně převeden do 250ml odměrné baňky a poté tenhle roztok byl využíván pro stanovení anthokyanových barviv ve šťávě.

Tabulka 25: Naměřená absorbance při stanovení anthokyanových barviv ve šťávě

[nm]	pufr AcOH			průměr
510	0,01	0,012	0,011	0,011
700	0,002	0,003	0,001	0,002
	pufr KCl			
500	0,138	0,15	0,148	0,14533
700	0,001	0,000	0,001	0,00067

$$A = (A_{510} - A_{700})_{KCl} - (A_{510} - A_{700})_{AcOH} = (0,14533 - 0,00067) - (0,011 - 0,002) = 0,136$$

$$c = \frac{A \cdot M \cdot F \cdot 10^3}{\varepsilon \cdot l} = \frac{0,136 \cdot 449,2 \cdot 250 \cdot 10^3}{26900 \cdot 1} = \underline{\underline{566,4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}}}$$

***V nejlepších extraktech vylisků***

Tabulka 26: Naměřená absorbance při stanovení anthokyanových barviv v extraktu ze vylisku po 13 h.

[nm]	pufr AcOH			průměr
510	0,068	0,071	0,070	0,070
700	0,014	0,021	0,019	0,018
	pufr KCl			
500	0,756	0,774	0,767	0,766
700	0,008	0,007	0,008	0,008

*Tabulka 27: Naměřená absorbance při stanovení anthokyanových barviv v extraktu ze výlisku po 14 h.*

<b>[nm]</b>	<b>pufr AcOH</b>			<b>průměr</b>
510	0,070	0,062	0,065	0,066
700	0,013	0,015	0,015	0,014
	<b>pufr KCl</b>			
500	0,703	0,692	0,689	0,695
700	0,011	0,009	0,010	0,010

*Tabulka 28: Naměřená absorbance při stanovení anthokyanových barviv v extraktu ze výlisku po 15 h.*

<b>[nm]</b>	<b>pufr AcOH</b>			<b>průměr</b>
510	0,071	0,073	0,072	0,072
700	0,017	0,019	0,018	0,018
	<b>pufr KCl</b>			
500	0,759	0,737	0,765	0,754
700	0,014	0,012	0,011	0,012

#### ***V analyzovaném vzorku čaji***

Roztoky nebyly zředěny, jelikož cílem bylo proměřit skutečnou koncentraci anthokyanových barviv. Naměřené hodnoty odpovídají lineární závislosti daného spektrofotometru i přestože přesahují hodnotu absorbance 1,0.

*Tabulka 29: Naměřená absorbance s acetátovým pufrém při stanovení anthokyanových barviv ve vzorků čajů*

		<b>Pufr AcOH</b>			<b>průměr</b>
1	510	0,071	0,084	0,076	0,077
	700	0,009	0,006	0,008	0,008
2	510	0,071	0,064	0,071	0,069
	700	0,007	0,004	0,003	0,005
3	510	0,159	0,165	0,166	0,163
	700	0,011	0,013	0,012	0,012
4	510	0,177	0,104	0,169	0,150
	700	0,012	0,009	0,011	0,011

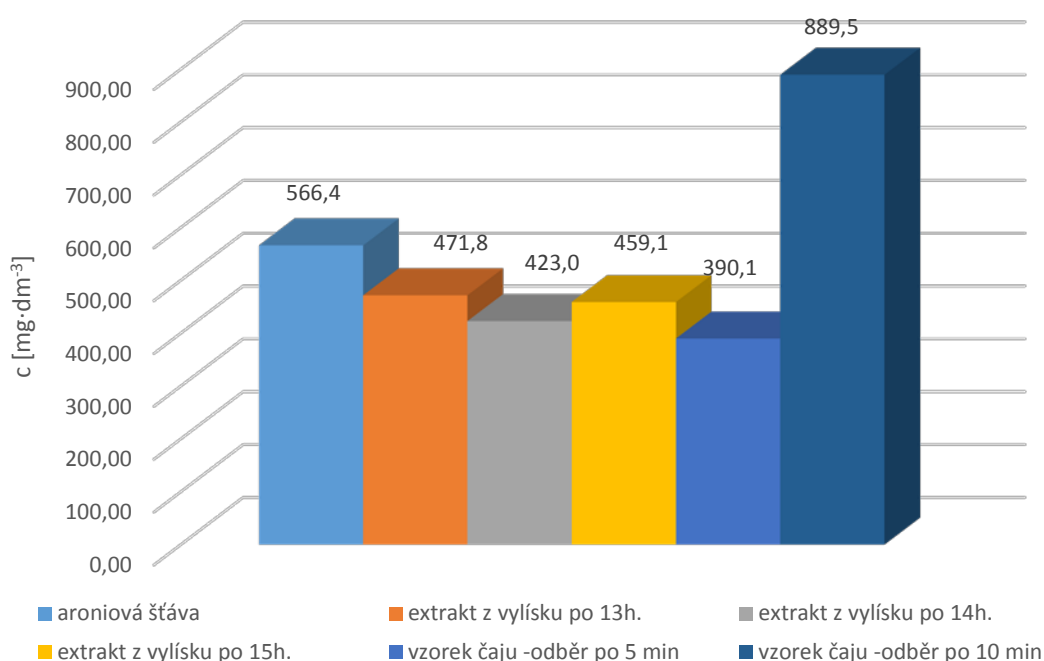
*Tabulka 30: Naměřená absorbance s chloridovým pufrém při stanovení anthokyanových barviv v čajů*

		<b>Pufr KCl</b>			<b>průměr</b>
1	510	0,669	0,660	0,663	0,664
	700	0,006	0,008	0,007	0,007
2	510	0,640	0,659	0,651	0,650
	700	0,006	0,006	0,005	0,006
3	510	1,493	1,494	1,493	1,493
	700	0,018	0,012	0,016	0,015
4	510	1,490	1,491	1,493	1,491
	700	0,017	0,015	0,014	0,015

### Porovnání výsledků

Tabulka 31: Výsledné hodnoty koncentrací ve vzorcích

c [mg·dm <sup>-3</sup> ]	aroniová šťáva	extrakt z výlisků	čaj z aronie
1	566,3705	471,8	392,5
2	-	423,0	387,6
3	-	459,1	886,2
4	-	-	892,8



Obrázek 18: Stanovení koncentrace anthokyanových barviv v analyzovaných vzorcích

Nejvyšší hodnota koncentrace anthokyanových barviv byla naměřena u vzorku čaje, který byl odebrán po 10 minutě luhování, a činí 889,5 mg·dm<sup>-3</sup>. Nejnižší hodnota koncentrace byla určena u vzorku čaje, který byl luhován pouze 5 minut a tato hodnota je 390,1 mg·dm<sup>-3</sup>. Podle literatury obsah anthokyanů v aronii je 460 mg na 100 g [36].

## 5 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce je zaměřena na charakterizaci aroniové šťávy, extraktů aroniových výlisků a aroniového čaje. Cílem závěrečné práce je popularizace tohoto ovoce na trhu, jelikož plody aronie mají vysoké nutriční hodnoty a prospívají zdraví člověka.

V praktické části práci byl hlavně kladen důraz na optimalizaci extrakce z výlisků aronie, kdy bylo nutné nejprve vybrat nejefektivnější způsob extrakce pro získání co největšího výtěžku. Dále bylo hledáno nejvýhodnější rozpouštědlo pro potravinářské účely a byl zkoumán časový profil extrakce.

Z grafů závislosti koncentrace na čase vyplývá, že při extrakci nad 13 hodin bylo dosaženo největšího výtěžku při použití rozpouštědla voda:ethanol v poměru 1:1. Výtěžek byl určen podle koncentrace celkových anthokyanových barviv. Poté byly stejným způsobem připraveny roztoky výlisků po extrahování 13, 14 a 15 hodin a dále se pracovalo s nimi.

Nejvyšší hodnota pH byla naměřená v extrakční směsi v čase 15 hodin (3,94), nejnižší pak u aroniové šťávy (3,42). Podle literatury aronie má hodnotu pH v rozmezí 3,3–3,9 [2].

Z naměřených hodnot je zřejmé, že nejvyšší stanovená hodnota titrační kyselosti  $140,9 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$  byla naměřená u čerstvě vylisované aroniové šťávy. Nejnižší hodnota titrační kyselosti  $1,0 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$  byla zjištěna u vzorku aroniového čaju, který byl odebrán po pěti minutách louhování.

V extrakční směsi v čase 13 hodin byla stanovena nejvyšší hodnota refraktometrické sušiny 28,52 hm. %. Vysoká hodnota refraktometrické sušiny je způsobena přítomností dalších látek, které také ovlivňují index lomu. Nejnižší hodnota byla naměřena u aroniového čaje – 1,87 hm. %.

Největší obsah redukujících sacharidů byl stanoven oběma metodami u aroniového čaje louhovaného 10 minut. Podle Bertrandovy metody tato hodnota činila 11,8 % a gravimetricky bylo stanoveno na 11,5 %. Nejnižší obsah sacharidů podle Bertranda bylo zastoupeno ve vzorku extraktu z výlisku po 15 hodině – 2,5 %, ale gravimetricky nejmenší hodnota byla u extraktu po 13 hodině – 2,4 %. Podle literatury obsah sacharidů v plodech aronie se pohybuje v rozmezí 16–18 % [2].

Nejvyšší hodnota fenolických látek byla naměřena ve vzorku čaje, který byl vylouhován 10 minut a jejich koncentrace činila  $319,54 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Nejmenší koncentrace byla stanovena na  $23,0 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  u aroniové šťávy. Literatura uvádí obsah fenolických látek v aronii 96 mg na 100 g [36].

V hojném počtu jsou zastoupeny anthokyanová barviva, a to ve všech analyzovaných vzorcích. Avšak výrazně nejvyšší hodnota  $889,49 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  byla stanovena v aroniovém čaji, který se louhoval 10 minut. K porovnání, nejnižší hodnota byla naměřena u vzorku čaje, který byl louhován pouze 5 minut a tato hodnota je  $390,09 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Podle literatury obsah anthokyanů v aronii je 460 mg na 100 g [36].

Tato práce potvrzuje, že plody aronie a její výlisky jsou dobrým zdroje jak anthokyanových barviv, tak i dalších bioaktivních látek. Plody aronie a její výlisky mohou být v potravinářství využity jako aditivní látky.

## 6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] DOLEJŠÍ, Antonín, Vladimír KOTT a Lubomír ŠENK. *Méně známé ovoce*. 1. vyd. Praha: Brázda, 1991. Zahrádka (Brázda). ISBN 80-209-0188-4.
- [2] KULLING, Sabine a Harshadai RAWEL. Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) – A *Review on the Characteristic Components and Potential Health Effects*. *Planta Medica*. 2008, 74(13), 1625-1634. DOI: 10.1055/s-0028-1088306. ISSN 0032-0943. Dostupné také z: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0028-1088306>
- [3] HRIČOVSKÝ, Ivan. *Drobné ovoce - a méně známé druhy ovoce*. Bratislava: Příroda, 2002. ISBN 80-07-01004-1.
- [4] Aronie (*Aronia melanocarpa*). *Www.atlasrostlin.cz* [online]. 2013 [cit. 2016-03-03]. Dostupné z: <http://ovoce-zelenina.atlasrostlin.cz/aronia>
- [5] ARONIE. *ARONIE z Podbeskydí* [online]. 2014 [cit. 2016-04-21]. Dostupné z: <http://www.aronieprozdravi.cz/o-nas/>
- [6] *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott - ID : 173. *BotanGIS* [online]. [cit. 2016-03-03]. Dostupné z: <http://botangis.upol.cz/botangis/botanicka-zahrada/173>
- [7] SINHA, Nirmal K, Jiwan S SIDHU, József BARTA, James S WU a M CANO. *Handbook of fruits and fruit processing*. Second edition. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2012. ISBN 08-138-0894-4.
- [8] SAFRONOVA, I.V., V.A. KOZLOV a I.A. GOLDINA. *Black chokeberry (Aronia Melanocarpa) biological activity and prospects in medicine*. In: *Innovative development of the agroindustrial complex*. 3(5). Siberian Branch, Russian Academy of Sciences: Scientific Research Institute of Fundamental and Clinical immunology, 2014, s. 32-43. ISSN 2311-0651.
- [9] FOREJTOVA, Irena. *Aronie, keř pro zdraví i krásu*. In: *Flora* [online]. Praha [cit. 2016-04-21]. Dostupné z: <http://www.floranazahrade.cz/aronie-ker-pro-zdravi-i-krasu/>
- [10] OSZMIAŃSKI, Jan a Aneta WOJDYLO. *Aronia melanocarpa phenolics and their antioxidant activity*. *European Food Research and Technology* [online]. 2005, 221(6), 809-813 [cit. 2016-04-04]. DOI: 10.1007/s00217-005-0002-5. ISSN 1438-2377. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00217-005-0002-5>
- [11] ZENDULKA, Ondřej. *Polyfenoly ve výživě jako možná prevence nádorových onemocnění*. Brno 2008. Diplomová práce. Masarykova Univerzita.
- [12] HAMMERSTONE, John. F. a Sheryl. A. LAZARUS. *Procyanidin Content and Variation in Some Commonly Consumed Foods*. *The Journal of nutrition* [online]. 2000, 130(8 2086S-2092S) [cit. 2016-04-04]. Dostupné z: <http://jn.nutrition.org/content/130/8/2086S.full#xref-ref-13-1>
- [13] KOLEČKÁŘ, Vít, Zuzana ŘEHÁKOVÁ, Eliška BROJEROVÁ a kol. *Proanthocyanidiny a jejich antioxidační aktivita*. *Chemické listy*. 2012, vol. 106, s. 113-121.
- [14] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin* 3. 2. upr. vyd. Tábor: OSSIS, 2002, 331 s. ISBN 80-866-5903-8.
- [15] Potravinářstvo. *Kvalitativní a kvantitativní stanovení anthokyanů v kultivarech pšenice s modrým a purpurovým* [online]. 2013, (7) [cit. 2016-04-02]. ISSN 1337-0960. Dostupné z:



[http://www.potravinarstvo.com/dokumenty/mc\\_march\\_2013/bezpecnost\\_potravin\\_ras\\_tlinneho\\_povodu/bartl.pdf](http://www.potravinarstvo.com/dokumenty/mc_march_2013/bezpecnost_potravin_ras_tlinneho_povodu/bartl.pdf)

- [16] DAVÍDEK, Jiří, Gustav JANÍČEK a Jan POKORNÝ. *Chemie potravin: učebnice pro vys. školy chemickotechnologické*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1983.
- [17] HOPFENZITZ, Petra. *Minerální látky: udržují tělo fit*. Vyd. 1. Praha: Ikar, 1999. Kompas (Ikar). ISBN 80-720-2546-5.
- [18] ANDREEVA, V. Y., N. V. ISAYKINA a E. V. PAVLOVA. *Study of elemental composition of black chokeberry fruits*. Siberian state medical university, 2013, 15([6]).
- [19] LOGVINOVA, E.E., T.A. BREZHNEVA a A.I. SLIVKIN. *Определение органических кислот в плодах аронии черноплодной*. Научные ведомости Белгородского государственного университета: Медицина. Фармация. 2015, 10(207)(30), 1-6.
- [20] SIMAKHINA, G. a N. NAUMENKO. *Biological value of Aronia berries*. Ukrainian Food Journal. 2012, 1(1). ISSN 2304-974X. Dostupné také z: <http://www.ufj.ho.ua/>
- [21] HIRVI, T. a E. HONKANEN. *Analysis of the volatile constituents of black chokeberry*. Journal of the Science of Food and Agriculture. 1985, 36(9), 808-810. DOI: 10.1002/jsfa.2740360908.
- [22] KOPÁČOVÁ, O. *Vláknina potravy a nutriční hodnota potravin* [online]. 2004 [cit. 2016-04-03]. Dostupné z: <http://www.agrovzdelavani.cz/default.asp?ch=207&typ=1&val=31558&ids=0>
- [23] HELLSTRÖM, Jarkko K., Alexander N. SHIKOV, Marina N. MAKAROVA, et al. *Blood pressure-lowering properties of chokeberry (Aronia mitchurinii, var. Viking)*. Journal of Functional Foods [online]. 2010, 2(2), 163-169 [cit. 2016-04-04]. DOI: 10.1016/j.jff.2010.04.004. ISSN 17564646. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1756464610000253>
- [24] KOKOTKIEWICZ, Adam, Zbigniew JAREMICZ a Maria LUCZKIEWICZ. *Aronia Plants: A Review of Traditional Use, Biological Activities, and Perspectives for Modern Medicine*. Journal of Medicinal Food [online]. 2010, 13(2), 255-269 [cit. 2016-04-04]. DOI: 10.1089/jmf.2009.0062. ISSN 1096-620x. Dostupné z: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/jmf.2009.0062>
- [25] ZIELIŃSKA-PRZYJEMSKA, M., A. OLEJNIK, A. DOBROWOLSKAZACHWIEJA a G. WŁODZIMIERZ. *Effects of Aronia Melanocarpa polyphenols on oxidative metabolism and apoptosis of neutrophils from obese and non/obese individuals*. Acta Scientiarum Polonorum. 2007, 6(3), 75-87.
- [26] O aronii. AroniaORIGINAL [online]. [cit. 2016-04-04]. Dostupné z: <http://www.aroniaoriginal.cz/aronia/eshop/10-1-AKCNI-NABIDKA>
- [27] HÁLKOVÁ, Jana, Marie RUMÍŠKOVÁ a Jana RIEGLOVÁ. *Analýza potravin*. 2. vyd. Újezd u Brna: I. Straka, 2001. ISBN 80-864-9402-0.
- [28] KOPLÍK, Richard. *Základy analýzy potravin*. VŠCHT.
- [29] PRÍBELA, Alexander. *Analýza potravin*. 2. vyd. Bratislava: Slovenská technická univerzita, 1996. Edícia skript. ISBN 80-227-0846-1.

- [30] KUBÁŇ, Vlastimil a Petr KUBÁŇ. *Analýza potravin*. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2007. ISBN 978-80-7375-036-7.
- [31] BALÍK, Josef. *Vinařství: návody do laboratorních cvičení*. 2. nezm.vyd. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2004. ISBN 80-715-7809-6.
- [32] ТЕРЛЕЦКАЯ, В. А., Е. В. РУБАНКА а И. Н. ЗИНЧЕНКО. *Влияние технологических факторов на процесс экстракции плодов рябины черноплодной*. Техника и технология пищевых производств [online]. 2013, (31)(4), 127-131 [cit. 2017-05-04]. ISSN 2074-9414. Dostupné z: <http://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-tehnologicheskikh-faktorov-na-protsess-ekstraktsii-plodov-ryabiny-chernoplodnoy>
- [33] GONZALEZ, Maria E. a Diane M. BARRETT. *Thermal, High Pressure, and Electric Field Processing Effects on Plant Cell Membrane Integrity and Relevance to Fruit and Vegetable Quality*. Journal of Food Science [online]. 2010, 75(7), R121-R130 [cit. 2017-04-11]. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2010.01763.x. ISSN 00221147. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1750-3841.2010.01763.x>
- [34] HRSTKA, Miroslav a Lenka SOMROVÁ. *Praktikum z analytické chemie potravin*. Vysoké učení technické v Brně Fakulta chemická.
- [35] KRÍŽOVÁ, H. *Optimalizace podmínek vodné extrakce antokyanů z révových výlisků pro účely ekologického barvení textilií*. WASTE FORUM. CEMC – České ekologické manažerské centrum, 2015, 2015(1), 12-18. ISSN 1804-0195.
- [36] ŠNEBERGROVÁ, J., H. ČÍŽKOVÁ, E. NERADOVÁ a B. KAPCI. *Variability of Characteristic Components of Aronia*. Czech J. Food Sci. 2014, 32(1), 25-30.

## 7 PŘÍLOHY

Tabulka 32: Průměr ze třech naměřených hodnot absorpance s použitím vody jako rozpouštědla a výsledná koncentrace anthokyanů

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
<b>A<sub>510</sub></b> <b>(pufr AcOH)</b>	0,016	0,021	0,031	0,035	0,039	0,043	0,029	0,036	0,041	0,038	0,041	0,047	0,047	0,042
<b>A<sub>700</sub></b> <b>(pufr AcOH)</b>	0,008	0,011	0,011	0,005	0,007	0,010	0,005	0,007	0,006	0,004	0,010	0,009	0,007	0,009
<b>A<sub>510</sub></b> <b>(pufr KCl)</b>	0,134	0,162	0,218	0,240	0,262	0,278	0,249	0,313	0,339	0,315	0,310	0,352	0,359	0,338
<b>A<sub>700</sub></b> <b>(pufr KCl)</b>	0,002	0,002	0,004	0,005	0,005	0,005	0,002	0,003	0,002	0,005	0,004	0,005	0,005	0,004
<b>A</b>	0,125	0,150	0,194	0,205	0,225	0,240	0,223	0,282	0,301	0,276	0,275	0,309	0,315	0,300
<b>c [mg·dm<sup>-3</sup>]</b>	34,7	41,8	54,0	57,2	62,7	66,9	62,2	78,5	83,9	76,8	76,5	86,0	87,7	83,6

Tabulka 33: Průměr ze třech naměřených hodnot absorpance s použitím EtOH:voda v poměru 1:1 jako rozpouštědla a výsledná koncentrace anthokyanů

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
<b>A<sub>510</sub></b> <b>(pufr AcOH)</b>	0,031	0,041	0,063	0,063	0,089	0,035	0,038	0,042	0,037	0,045	0,078	0,075	0,081	0,084
<b>A<sub>700</sub></b> <b>(pufr AcOH)</b>	0,007	0,005	0,010	0,008	0,008	0,007	0,006	0,008	0,004	0,007	0,009	0,011	0,010	0,012
<b>A<sub>510</sub></b> <b>(pufr KCl)</b>	0,265	0,367	0,569	0,571	0,793	0,272	0,294	0,312	0,276	0,354	0,626	0,623	0,662	0,689
<b>A<sub>700</sub></b> <b>(pufr KCl)</b>	0,005	0,004	0,005	0,010	0,007	0,005	0,005	0,005	0,006	0,007	0,009	0,010	0,009	0,009
<b>A</b>	0,236	0,328	0,512	0,506	0,705	0,238	0,257	0,272	0,236	0,308	0,549	0,549	0,583	0,608
<b>c [mg·dm<sup>-3</sup>]</b>	98,7	136,8	213,9	211,4	294,3	159,0	171,4	181,9	157,9	205,9	366,7	366,5	389,4	406,1